This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Informazioni su questo libro

Si tratta della copia digitale di un libro che per generazioni è stato conservata negli scaffali di una biblioteca prima di essere digitalizzato da Google nell'ambito del progetto volto a rendere disponibili online i libri di tutto il mondo.

Ha sopravvissuto abbastanza per non essere più protetto dai diritti di copyright e diventare di pubblico dominio. Un libro di pubblico dominio è un libro che non è mai stato protetto dal copyright o i cui termini legali di copyright sono scaduti. La classificazione di un libro come di pubblico dominio può variare da paese a paese. I libri di pubblico dominio sono l'anello di congiunzione con il passato, rappresentano un patrimonio storico, culturale e di conoscenza spesso difficile da scoprire.

Commenti, note e altre annotazioni a margine presenti nel volume originale compariranno in questo file, come testimonianza del lungo viaggio percorso dal libro, dall'editore originale alla biblioteca, per giungere fino a te.

Linee guide per l'utilizzo

Google è orgoglioso di essere il partner delle biblioteche per digitalizzare i materiali di pubblico dominio e renderli universalmente disponibili. I libri di pubblico dominio appartengono al pubblico e noi ne siamo solamente i custodi. Tuttavia questo lavoro è oneroso, pertanto, per poter continuare ad offrire questo servizio abbiamo preso alcune iniziative per impedire l'utilizzo illecito da parte di soggetti commerciali, compresa l'imposizione di restrizioni sull'invio di query automatizzate.

Inoltre ti chiediamo di:

+ *Non fare un uso commerciale di questi file* Abbiamo concepito Google Ricerca Libri per l'uso da parte dei singoli utenti privati e ti chiediamo di utilizzare questi file per uso personale e non a fini commerciali.

+ *Non inviare query automatizzate* Non inviare a Google query automatizzate di alcun tipo. Se stai effettuando delle ricerche nel campo della traduzione automatica, del riconoscimento ottico dei caratteri (OCR) o in altri campi dove necessiti di utilizzare grandi quantità di testo, ti invitiamo a contattarci. Incoraggiamo l'uso dei materiali di pubblico dominio per questi scopi e potremmo esserti di aiuto.

+ *Conserva la filigrana* La "filigrana" (watermark) di Google che compare in ciascun file è essenziale per informare gli utenti su questo progetto e aiutarli a trovare materiali aggiuntivi tramite Google Ricerca Libri. Non rimuoverla.

+ *Fanne un uso legale* Indipendentemente dall'utilizzo che ne farai, ricordati che è tua responsabilità accertati di farne un uso legale. Non dare per scontato che, poiché un libro è di pubblico dominio per gli utenti degli Stati Uniti, sia di pubblico dominio anche per gli utenti di altri paesi. I criteri che stabiliscono se un libro è protetto da copyright variano da Paese a Paese e non possiamo offrire indicazioni se un determinato uso del libro è consentito. Non dare per scontato che poiché un libro compare in Google Ricerca Libri ciò significhi che può essere utilizzato in qualsiasi modo e in qualsiasi Paese del mondo. Le sanzioni per le violazioni del copyright possono essere molto severe.

Informazioni su Google Ricerca Libri

La missione di Google è organizzare le informazioni a livello mondiale e renderle universalmente accessibili e fruibili. Google Ricerca Libri aiuta i lettori a scoprire i libri di tutto il mondo e consente ad autori ed editori di raggiungere un pubblico più ampio. Puoi effettuare una ricerca sul Web nell'intero testo di questo libro da `http://books.google.com`

LO SPERIMENTALE

—

ARCHIVIO DI BIOLOGIA NORMALE E PATOLOGICA

LO SPERIMENTALE

ARCHIVIO DI BIOLOGIA NORMALE E PATOLOGICA

COMITATO DI DIREZIONE:

BANTI Prof. Guido
BUFALINI Prof. Giovanni — CHIARUGI Prof. Giulio
FANO Prof. Giulio — LUSTIG Prof. Alessandro
ROSTER Prof. Giorgio

Anno LVII

FIRENZE
SOCIETÀ TIPOGRAFICA FIORENTINA
VIA SAN GALLO, N. 33

1903

Proprietà letteraria

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Padova
diretto dal Prof. A. Bonome.

SULLA TOSSICITÀ DEL SANGUE NELL'IPERTERMIA SPERIMENTALE.

OSSERVAZIONI DEI DOTTORI

ETTORE RAVENNA e **PASQUALE MINASSIAN**

aiuto — assistente volontario.

I dannosi effetti della temperatura elevata sull'organismo sono dimostrati non soltanto da una numerosa serie di osservazioni istologiche fatte sui tessuti dei febbricitanti, ma anche da molteplici ricerche eseguite sopra animali di laboratorio esposti a temperature elevate, appunto allo scopo di portare qualche luce sul modo di agire del calore sopra gli organi di maggiore importanza vitale.

Così *Goldscheider* e *Flatau*, *Marinesco*, *Lugaro*, *Alessi* e *Pieri*, hanno trovato lesioni nei centri nervosi; *Leyden* e *Fraenkel*, *Werhowsky*, *Bentivegna* ed altri ne hanno descritte negli organi parenchimatosi; alterazioni tutte che diventano assai gravi per la soppressa funzione di organi di importanza capitale, quando la temperatura abbia raggiunto un determinato limite o abbia agito per un tempo molto lungo.

Oltre però alle lesioni degli organi, che non sappiamo dire fino a qual limite possano essere invocate per spiegare da sole l'esito letale causato dalle temperature elevate sugli animali da esperimento, non sembra fuori di luogo pensare all'azione di una sostanza tossica messa in libertà nell' organismo per effetto dell' esposizione del corpo ad alte temperature, e che potrebbe a sua volta sommarsi all' azione diretta della temperatura stessa sugli elementi morfologici dei tessuti, aggravandone le lesioni.

Il *Vincent* (1) diede la prova sperimentale che nella ipertermia si ha la morte per autointossicazione, perchè sangue ed estratti acquosi di organi, specialmente del sistema nervoso di animali riscaldati, da lui iniettati negli animali sani, producono la morte coi sintomi dell'iper-riscaldamento.

Fermandoci sul dato dell'azione deleteria del sangue, ci siamo chiesti se esso agisca come tossico solo perchè il riscaldamento lo ha in qualche modo modificato, o anche perchè circolando abbia potuto assumere dall'organismo i prodotti tossici di un ricambio alterato.

Per vedere se il sangue in causa del riscaldamento diventa tossico, abbiamo salassato conigli, ne abbiamo riscaldato il sangue a 55°-60° per circa un'ora e poi l'abbiamo inoculato sotto cute a tre riprese in dose crescente da 5 a 15 cc. in conigli, che mostrarono di non risentirne nessun effetto. Colle stesse modalità l'esperimento fu ripetuto nelle cavie, il cui sangue riscaldato a 55°-60° fu inoculato poi a tre riprese in quantità di 5 cc. in due cavie; queste pure stettero sempre bene.

Tanto basta per essere autorizzati a concludere che il sangue di animali riscaldato fuori dell'organismo a temperatura anche più elevata di quella che basterebbe a produrre la morte agendo sull'animale stesso, non è tossico per gli individui della stessa specie dell'animale fornitore del sangue.

Avviati allo studio delle alterazioni nelle proprietà del sangue in seguito al riscaldamento, pensammo di cercare se i fenomeni di emolisi si modificassero eventualmente sotto la azione della temperatura alta.

Abbiamo trovato che modificazioni non avvengono, ma le ricerche su questo indirizzo ci hanno condotto all'interessante reperto che il sangue di coniglio, riscaldato fuori dello organismo alla temperatura di 55°-60°, mentre come si è visto non ha nessuna azione sui conigli, diventa tossico per le cavie.

Qui diventa opportuna una esposizione un po' dettagliata dei nostri esperimenti.

---

(1) VINCENT, *Recherches expérimentales sur l'hyperthermie.* Paris, 1887. — VINCENT, *Sulla leucolisi prodotta con l'ipertermia sperimentale.* (Vedi Rivista critica di Clinica Medica, n. 32, 9 agosto 1902).

I. — Emolisi e Calore.

Una cavia fu sottoposta per 6 giorni da mezz'ora gradatamente fino ad un'ora e mezzo ad una temperatura che fu aumentata ogni giorno in modo, che dai 40° iniziali si arrivò ai 50° $^1/_2$. Raccoltone il sangue, parte di esso fu messo in soluzione fisiologica di cloruro di sodio, del resto se ne isolò il siero e si fecero le seguenti miscele:

I). $^7/_{10}$ cc. di siero di cavia riscaldata + 1 cc. di soluzione al 5 °/₀ di globuli rossi di coniglio sano in soluzione fisiologica di cloruro di sodio.

II). $^3/_{10}$ cc. di siero di cavia riscaldata + $^3/_{10}$ cc. di siero di coniglio normale + 2 cc. di soluzione al 5 °/₀ in soluzione fisiologica di sangue di coniglio normale.

III). $^3/_{10}$ cc. di siero di cavia riscaldata + $^3/_{10}$ cc. di siero di cavia sana + 2 cc. di soluzione al 5 °/₀ in soluzione fisiologica di cloruro di sodio di sangue di coniglio normale.

Di queste tre miscele non si ebbe nelle prime due nessuna traccia di dissoluzione di globuli rossi, nell'ultima invece si ebbe completa emolisi; il che starebbe ad indicare che la temperatura di 50° $^1/_2$ agendo per lungo tempo sul sangue circolante della cavia vivente, ha distrutto il complemento contenuto nel suo siero, che questo complemento non potè nel caso presente essere sostituito col siero di coniglio normale, ma solo col siero di cavia normale, e che il riscaldamento ha prodotto forse corpi immuni verso i globuli rossi di coniglio, forse col meccanismo di un distacco di ricettori.

Senonchè in base a questo reperto interessantissimo non possiamo concludere che il riscaldamento della cavia ne renda il sangue emolitico verso i globuli rossi di coniglio, perchè altre due cavie riscaldate nello stesso modo diedero risultato negativo dell'esperimento. Naturalmente tutte le volte fu fatta una miscela di globuli rossi di coniglio collo stesso siero di cavia normale che si aggiungeva al siero della cavia riscaldata perchè agisse da complemento, nè mai si osservò un accenno all'emolisi nelle tre provette di controllo.

I due risultati negativi imbarazzano molto sulla interpretazione dell'emolisi ottenuta soltanto nella prima prova sperimentale. Non possiamo dire che nel siero di quella cavia riscaldata siasi prodotta una sostanza dissolvente i globuli rossi, perchè miscele del siero in questione coi globuli rossi della stessa cavia riscaldata e coi globuli rossi di una cavia normale non presentarono alcuna dissoluzione. E che in seguito al riscaldamento delle cavie il siero non diventi nè autolitico nè isolitico lo confermano i risultati negativi degli esperimenti stessi tentati col siero delle altre due cavie riscaldate.

Il risultato positivo ottenuto non possiamo considerarlo dunque che una delle manifestazioni strane non costanti dei fenomeni citotossici.

Il siero di cavia normale non distrugge i globuli rossi delle cavie riscaldate; il siero di coniglio normale non produce nei globuli rossi di cavia riscaldata dissoluzione maggiore di quella che produce (per il suo potere emolitico naturale) nei globuli rossi di cavia normale.

Queste prove ci dicono che il calore non rende i globuli rossi della cavia meno resistenti di fronte al fenomeno dell' emolisi.

Una cavia fu preparata con iniezioni di globuli rossi di coniglio dopo avere subìto un riscaldamento di un' ora per tre giorni ad una temperatura di 40°-45°; un' altra fu riscaldata a questa temperatura per un' ora al giorno nei periodi che intercedevano fra una iniezione e l'altra; un' altra infine fu riscaldata, oltre che nei periodi di intervallo, anche per i dieci giorni che si lasciano generalmente decorrere dall'ultima iniezione, prima di salassare l' animale per saggiare il potere emolitico acquisito dal suo siero.

Ebbene, anche avendo sperimentato con queste varianti, il siero di queste cavie si mostrò assai emolitico verso i globuli rossi di coniglio normale, o con altre parole le modificazioni apportate col soprariscaldamento nel sangue delle cavie non modificano per nulla l'attività emolitica del siero di cavia verso i globuli rossi di coniglio. Si è pensato allora che il

riscaldamento dell' animale non fosse sufficiente, perchè se nel meccanismo di formazione delle emolisine avesse una certa influenza il complemento del sangue dell' animale ricevente (la qual cosa si voleva ricercare col riscaldamento della cavia prima della iniezione di sangue di coniglio), per neutralizzare l' azione di tale complemento bisognerebbe riscaldare prima dell' iniezione fino a 55°, temperatura incompatibile colla vita dell' animale. D' altra parte per agire sui corpi immuni in via di formazione (scopo del riscaldamento fatto dopo le iniezioni di sangue), il riscaldamento stesso deve essere ancora più forte, perchè essi corpi immuni vengono paralizzati a 75° ed attenuati soltanto a 70°, temperatura che rende più lenta la loro azione, come ha dimostrato il *Bordet* (1).

Gli esperimenti da noi escogitati per provare se la temperatura modifichi la produzione dell' emolisi, non potevano perciò tentarsi che sotto un altro aspetto, cioè modificando *in vitro* il sangue dell'animale fornitore col riscaldamento a quella temperatura che attenua l' azione degli anticorpi, per vedere anzitutto se così la produzione di questi fosse ostacolata. Il riscaldamento del sangue dovette essere fatto fuori dell' organismo oltre che per la impossibilità di raggiungere compatibilmente colla vita dell' animale la temperatura voluta, anche perchè diventa tossico, come si è già detto, il sangue di certi animali sottoposti al riscaldamento. Perciò sangue di coniglio fu riscaldato fino a 68° (a temperatura più alta non si potè arrivare perchè l' albumina del siero coagula) e poi fu iniettato in una cavia, la quale dopo due iniezioni sottocutanee di 3 cc. fatte con 4 giorni di intervallo l' una dall'altra, morì alla distanza di 3 giorni dall' ultima iniezione, non lasciando così il tempo che deve trascorrere prima di saggiare il siero. Come descriveremo meglio più avanti, questo esperimento più volte tentato colla massima accuratezza diede costantemente, con nostra meraviglia, il medesimo risultato: le cavie iniettate con piccole quantità di sangue di coniglio, defibrinato e riscaldato, morirono tutte dopo poche iniezioni.

(1) Bordet, *Agglutination et dissolution des hématies.* (Annales de l' Institut Pasteur, 1899, pag. 284).

Rimaneva intanto da ricercare se qualche modificazione si verificasse nella produzione dell' emolisi, quando fosse riscaldato fuori dell' organismo il sangue dell' animale fornitore a quella temperatura di 55°, che sappiamo neutralizzare l'azione del complemento.

Perchè il lavoro di *Nolf* (1) sui sieri antiematici ha dimostrato chiaramente che alla parte corpuscolare del sangue iniettato è dovuta la produzione del potere agglutinante e globulicida, mentre al siero del sangue iniettato è dovuta la comparsa della proprietà precipitante nel sangue dell' animale ricevente, il riscaldamento a 55° del sangue di coniglio prima di essere iniettato nella cavia poteva modificare il meccanismo di formazione delle precipitine. Non si può dire altrettanto della proprietà globulicida del siero antiematico in base anche a quanto sapevamo avere il *Buchner* riferito nel XIII° Congresso internazionale di Medicina a Parigi (2), che cioè si producono gli anticorpi allorchè l'animale sia preparato con eritrociti specifici, freschi o riscaldati a 60°. Comunque, si volle tentare l'esperimento, l' esito del quale ci portò fuori del campo dell' emolisi, in seguito al reperto ottenuto che il sangue del coniglio riscaldato a 55°-60° è tossico per la cavia.

Una prima cavia sopportò 4 iniezioni di sangue di coniglio a 55°. Le iniezioni vennero fatte sottocutanee, a tre giorni di intervallo l' una dall' altra, nella quantità di 5 cc., e l'animale fu trovato morto 3 giorni dopo l'ultima iniezione. L'ipotesi di una morte accidentale non fu emessa senza qualche dubbio, perchè si confrontò subito questo esito letale con quello che si era avuto nella cavia inoculata con sangue di coniglio a 68°. Ma l' azione tossica non fu messa più in dubbio dopochè fu parecchie volte ripetuto coi medesimi risultati lo stesso esperimento.

Altre 8 cavie furono iniettate con sangue di coniglio riscaldato e morirono tutte, anche quando si volle tentare qualche modificazione nell' esperimento, o coll' introdurre mi-

(1) Nolf, *Contribution à l'étude des sérums antihématiques.* (Annales de l'Institut Pasteur, 1900, pag. 297).

(2) Vedi Riforma Medica, 1900, vol. III, pag. 434.

nore quantità di sangue, o coll'aumentare il numero dei giorni d'intervallo fra una iniezione e l'altra, o col riscaldare il sangue a temperatura un po' più alta dei 55°. Generalmente il sangue in seguito al riscaldamento di circa un'ora a temperatura che variava dai 55° ai 60° assumeva un aspetto di lacca, un colore più oscuro dovuto alla dissoluzione dei globuli rossi.

La prima cavia iniettata fu la più resistente perchè nello spazio di 9 giorni sopportò 4 iniezioni; è vero che altre due vissero una quindicina di giorni, ma una di esse con tre, l'altra con due iniezioni soltanto.

Gli esperimenti successivi furono istituiti volta per volta contemporaneamente in due cavie colle stesse modalità, cioè le iniezioni in ciascuna coppia erano dello stesso sangue riscaldato di coniglio, nelle stesse quantità e venivano fatte insieme. Arrivammo in tal modo al risultato notevole che gli animali morivano lo stesso giorno, a poche ore d'intervallo l'uno dall'altro; due un giorno dopo la seconda iniezione, due in quinta giornata e due in seconda giornata dopo un' unica iniezione. Poichè tutte le cavie adoperate avevano circa lo stesso peso, siamo autorizzati a concludere che assai probabilmente più che a diversa resistenza degli animali riceventi le iniezioni, le differenze di risultati sono dovute al diverso grado di tossicità che acquista il sangue dei singoli conigli in seguito al riscaldamento.

Nella produzione del fenomeno pensammo che nessuna parte avesse il siero del sangue iniettato, perchè il riscaldamento a 55° neutralizza il complemento, cioè quel componente del siero che poteva, in seguito al prodursi dei corpi immuni, esplicare, determinando l'emolisi, effetti dannosi sopra gli animali in esperimento.

Tuttavia separammo la parte corpuscolare del sangue di coniglio dalla parte liquida colla centrifugazione e la iniettammo dopo un riscaldamento a 55° in una cavia, che morì due giorni dopo; il siero riscaldato naturalmente riuscì innocuo per un'altra cavia, alla quale riuscirono pure innocue altre tre iniezioni di siero di coniglio a 55° somministrate a dosi anche maggiori.

Un' altra cavia morì in seguito a tre iniezioni della semplice parte corpuscolare riscaldata a 55° del sangue di coniglio, confermando così che il sangue di coniglio riscaldato a 55°-60° diventa tossico per la cavia per azione della parte corpuscolare.

Difficile riesce la spiegazione del fenomeno, in quanto si pensi che il sangue riscaldato di coniglio non diventa tossico, perchè non uccide il coniglio, e che la cavia non è intollerante di iniezioni di sangue riscaldato, perchè sopporta benissimo iniezioni di sangue riscaldato di cavia.

Abbiamo cercato una spiegazione ricorrendo ai fenomeni dell' emolisi, ammettendo cioè che il calore esalti il potere emolitico del siero di coniglio verso la cavia, producendo dei corpi immuni in eccesso, i quali combinandosi col complemento del siero della cavia che riceve le iniezioni, ne dissolva i globuli rossi. L' esperimento però fece subito scartare questa ipotesi. Fu riscaldato sangue di coniglio a 55°, poi se ne isolò il siero, il quale in quantità di $^1/_2$ cc. fu mescolato in una provetta ad una goccia di sangue di cavia normale e ad un cc. di siero della stessa cavia, il quale agendo da complemento aveva lo scopo di rivelare la presenza dei corpi immuni, se vi erano, nel siero di sangue riscaldato, determinando l' emolisi.

Non si ebbe nella provetta neppure la minima traccia di dissoluzione dei globuli rossi, come non si ebbe traccia nel tubo di controllo, dove era stata fatta una miscela di $^1/_2$ cc. di siero dello stesso sangue del coniglio fornitore non riscaldato e di una goccia di sangue di cavia. Altrove deve cercarsi dunque la causa della morte delle cavie trattate con sangue riscaldato di coniglio.

Nessun dato caratteristico ci fornirono i sintomi presentati dagli animali nelle ultime ore o negli ultimi momenti di vita: la morte avveniva preceduta da lungo malessere, collasso, perdita più o meno completa delle funzioni di moto, interrotta di quando in quando da lievi scosse degli arti. Nessun dato necroscopico positivo, se si eccettua una congestione non costante degli organi addominali.

L' esame istologico degli organi più importanti per le funzioni vitali ci poteva fornire qualche schiarimento; ma si do-

veva necessariamente per istituire un confronto esaminare anche gli organi degli animali soprariscaldati sperimentalmente. Siamo stati così condotti allo studio delle lesioni istologiche determinate dalla ipertermia sperimentale, e non sarà inutile cogliere l' occasione per portare un contributo in una questione di così grande importanza.

II. — Alterazioni istologiche determinate negli organi dall' ipertermia sperimentale e dalle iniezioni di sangue riscaldato.

Poichè fra gli autori che si sono occupati dell' argomento possiamo distinguere un gruppo che rivolse l' attenzione esclusivamente alle alterazioni che avvengono nelle cellule dei centri nervosi, di questi cominceremo anche noi ad occuparci.

Il *Litten* (1), studiando gli organi delle cavie riscaldate per lungo tempo a temperatura non troppo alta (36°–40°), nulla trovò di anormale nelle cellule del cervello e del midollo spinale. Bisogna però notare che non aveva l' A. a sua disposizione certi mezzi di tecnica speciali per il sistema nervoso e che solo dopo l' applicazione del metodo di *Nissl*, se non l' unico certo il più adatto per dare risalto a certe modificazioni strutturali della cellula nervosa, fu possibile a *Goldscheider* e *Flatau* (2) descrivere alterazioni, che nel loro complesso furono poi confermate da chi in seguito si occupò dell' argomento.

Essi trovarono, quando la temperatura degli animali era mantenuta a 41°–42° per qualche ora, o per un tempo minore a 43°, che la modificazione più importante della cellula si manifesta nelle zolle cromatofile, che si disgregano e finiscono collo scomparire completamente; inoltre si ha tumefazione del corpo cellulare e dei prolungamenti protoplasmatici.

Il *Lugaro* (3) mette in rilievo il fatto che nell' ipertermia

---

(1) Litten, *Ueber die Einwirkung erhöhten Temperaturen auf den Organismus*. Virchow's Archiv Band LXX, 1877.

(2) Goldscheider e Flatau, *Beiträge zur Pathologie der Nervenzelle* Forschrifte der Medicin, 7, 1897.

(3) Lugaro, *Sulle alterazioni delle cellule nervose nella ipertermia sperimentale*. Rivista di Patologia nervosa e mentale, Vol. III, Fasc. 5, 1898.

sperimentale l'alterazione è diffusa a tutti gli elementi nervosi e in grado quasi eguale, a differenza delle altre affezioni generali, in cui accanto a cellule molto alterate se ne osservano altre di aspetto normale.

Queste alterazioni negli animali la cui temperatura ha superato i 43° sono quasi esclusivamente disgregazione profonda e dissoluzione della parte cromatica dell'elemento ganglionare, preceduta da frammentazione dei corpi cromatofili stessi. Nel midollo spinale le cellule dei cordoni sembrano più lese delle radicolari anteriori, riducendosi il protoplasma ad irregolare reticolo; ma questa apparenza sarebbe dovuta alla diversa costituzione delle due specie di cellule, perchè nelle radicolari la zona acromatica del protoplasma è costituita da un reticolo assai più serrato e a maglie molto più strette che nelle cellule dei cordoni.

Marinesco (1) studiò le differenze nel manifestarsi delle alterazioni quando si varia la temperatura e vide che una temperatura di 47°, quando agisca per breve tempo, è meno dannosa alla cellula dei centri nervosi che una temperatura di 43°-44° che agisca per più ore. Le alterazioni colpiscono però sempre di preferenza gli elementi cromatofili, riducendoli ad un ammasso di piccoli granuli, o distruggendoli interamente.

Alessi e *Pieri* (2) pensarono di eliminare gli effetti che può risentire il sistema nervoso secondariamente per lesioni che si producono anche negli altri organi, quando gli animali sono riscaldati nei termostati, e perciò agirono sui centri nervosi colla circolazione artificiale di soluzione fisiologica portata a diversa temperatura. Esperimentando in tal modo, arrivarono alla conclusione che le temperature elevate danno luogo a lesioni di tutte le diverse parti dell'elemento nervoso della corteccia e che queste lesioni sono proporzionali al grado d'elevamento della temperatura.

---

(1) Marinesco, *Recherches sur les lésions des centres nerveux, consécutives à l'hyperthermie expérimentale et à la fièvre.* (Revue neurologique, 1899).

(2) Alessi e Pieri, *Le alterazioni della corteccia cerebrale nella ipertermia sperimentale.* (Policlinico, Sezione Medica, 1902, fasc. 1-2).

Non era il caso che noi andassimo alla ricerca di un metodo per produrre lesioni soltanto nei centri nervosi, interessandoci il complesso delle lesioni istologiche prodotte sull'organismo dalle temperature elevate. Per avvicinarci inoltre il più possibile alle condizioni volute dal confronto che ci siamo proposti di istituire colle cavie morte per iniezioni di sangue di coniglio a 55°, il riscaldamento nel termostato cercammo si spingesse verso tale temperatura, fino al punto compatibile colla vita degli animali, i quali morirono allorchè si giunse a 52°-53°. I sintomi presentati furono respirazione frequentissima, scosse convulsive diffuse a tutti gli arti; negli ultimi momenti la frequenza del respiro è massima e talora assume il tipo *Cheyne-Stokes*; è prevalentemente addominale; le pulsazioni cardiache sono irregolari, assai frequenti (155° al minuto). L'animale sembra uscito da un bagno, tanto è abbondante il sudore che lo ricopre tutto.

Alla temperatura mortale si giunse in alcuni animali con un solo riscaldamento, che cominciato a 38° salì gradatamente nello spazio di 1 $^1/_2$ ora; in altri animali 3 e persino 7 giorni dopo il principio dell'esperienza, avendo in ognuno dei giorni precedenti riscaldato gli animali per un tempo progressivamente più lungo (da $^1/_2$ ora ad 1 ora per volta), a temperatura che ogni giorno veniva aumentata (dai 40° ai 46°). Riferiamo l'esame istologico dei casi più dimostrativi.

Una cavia riscaldata fino alla più alta temperatura in un solo giorno presentò alterazioni cellulari specialmente nel midollo spinale. Il metodo di *Nissl* colora diffusamente gli elementi cellulari, talora con gradazione uniforme di tinta, talora in modo da poter dividere la massa protoplasmatica in due parti non sempre regolarmente disposte, una fortemente colorata, l'altra che ha assunto una tinta bleu pallida ed un aspetto sfumato, in guisa che i margini dell'elemento diventano irregolari. Le zone cromatofile sono scomparse quasi dovunque, il protoplasma ha assunto un aspetto reticolato. Alcune zolle colorate più intensamente si vedono ancora in qualche elemento; non sono però regolari, nè hanno le dimensioni delle normali zolle cromatofile, ma sono o più piccole ed allora ne rappre-

sentano la frammentazione, o più grandi ed irregolari e ne rappresentano la fusione.

Un simile reperto ottenemmo in un coniglio riscaldato nello stesso modo. Trovammo quivi alcune cellule ganglionari meno lese delle altre e in cui le zolle cromatofile, assai irregolari, unendosi fra loro in modo da costituire un reticolo ad impalcatura assai grossa e colorato intensamente in bleu dalla tionina, dimostravano come in questo caso la scomparsa dei corpi di *Nissl* sia preceduta dalla fusione, non dalla frammentazione come avrebbe dimostrato nei suoi esperimenti il *Lugaro*.

Negli altri animali riscaldati per parecchi giorni le alterazioni del midollo sono assai più avanzate; non solo si ha la scomparsa totale della parte cromatica, che costituisce il fatto costante e si osserva in tutti gli elementi, ma le alterazioni si estendono anche alla parte acromatica, per modo che il protoplasma non apparisce più sempre e nettamente reticolato, ma assai di frequente è omogeneo e colorato appena, non differenziabile dal nucleo, che anzi assai di rado si vede, mentre sempre visibile ed intensamente colorito è il nucleolo. Si appalesano cioè le note caratteristiche della degenerazione vitrea in alcuni elementi, mentre in altri molti si hanno i segni manifesti di una disgregazione cellulare con perdita di contorno dell'elemento e fuoriuscita dei granuli, che vanno a costituire così un detrito, prodotto dalla distruzione protoplasmatica.

Neppure un minimo accenno ad una distruzione di protoplasma si nota invece negli elementi nervosi dell'encefalo, dove si osservano bensì degenerazione vitrea e scomparsa delle zolle cromatofile, ma sempre le cellule hanno conservato regolarissimi forma, contorno e prolungamenti.

Questo diverso modo di reagire, essendosi manifestato costantemente, ci permette di formulare la conclusione che gli elementi nervosi del midollo spinale resistono al riscaldamento artificiale meno degli elementi nervosi dell'encefalo.

I nostri reperti, che vediamo nelle linee generali concordare con quelli ottenuti dagli altri ricercatori, anche se la temperatura è stata da noi elevata maggiormente, confrontiamoli

ora coll'esame microscopico dei centri nervosi delle cavie morte in seguito ad iniezione di sangue riscaldato di coniglio.

Nel midollo spinale le cellule ganglionari sono poco alterate; le modificazioni si sono istituite specialmente nella parte cromatica del protoplasma, dove le zolle di *Nissl* sono o più irregolari o più piccole del normale.

Lesioni piuttosto gravi riscontriamo invece nei centri nervosi encefalici, dove, pur non arrivando alla scomparsa dei corpi cromatofili, se ne osserva molto spesso una avanzata disgregazione, la quale si accompagna ad irregolarità di forma dell'elemento ganglionare per l'interrotta continuità del suo bordo periferico, a presenza entro il protoplasma e talora entro il nucleo di scarsi e piccoli vacuoli, a raggrinzamento ed atrofia del nucleo stesso.

Le funzioni importantissime dei centri nervosi cerebrali, a giudicare da queste alterazioni istologiche, dovevano essere lese senza dubbio; quale importanza si debba attribuire ad esse nell'esito letale seguìto nelle cavie all'introduzione di sangue riscaldato di coniglio non si può decidere, se prima non si sono esaminati altri organi, le cui funzioni sono indispensabili alla vita animale. Tali sono il fegato ed il rene. Abbiamo istituito anche qui il confronto fra organi di animali riscaldati ed organi di animali morti in seguito ad iniezioni di sangue riscaldato.

Accenneremo prima di volo ai varî reperti istologici ottenuti specialmente negli organi parenchimatosi coll'ipertermia sperimentale.

Zwaschkewitsch (1) in conigli e cavie riscaldate per parecchi giorni a 33°-39° trovò atrofia del miocardio e degenerazione torbida delle cellule epatiche; diagnosticò inoltre nel fegato una scarsa degenerazione grassa mediante una miscela di alcool ed etere.

Litten (2) seguì le stesse modalità nell'esperimento, tenne

(1) ZWASCHKEWITSCH, *Ueber die anatomisch-pathologischen Veränderungen der parenchymatösen Organe unter dem Einfluss der hohen Temperaturen.* Dissert. 1870, St. Petersburg.

(2) Op. cit.

cioè la temperatura oscillante fra i 36°-40° per parecchi giorni e vide che le alterazioni variavano di grado a seconda della durata del riscaldamento, ma che si trattava sempre di degenerazione grassa, la quale comincia nel fegato e si presenta poi nel rene, nel cuore, nei muscoli, nei vasi. Il riscaldamento per questo autore agirebbe primitivamente sui globuli rossi, ostacolando la funzione loro di portare ossigeno agli organi, i quali andrebbero perciò incontro alla degenerazione grassa.

Nasaroff (1) trovò che le temperature elevate (40°-51°), le quali lasciano in vita l'animale assai poco tempo, determinano negli organi scomparsa dei limiti cellulari, intorbidamento del protoplasma e distruzione dei nuclei.

Secondo il *Naunyn* (2) le alterazioni determinate da una temperatura di 35°-40° sono minime. Il rene diviene torbido solo quando sieno oltrepassati i 43°.

Il *Werhowsky* (3) descrisse degenerazione grassa ed idropica, necrosi degli epiteli renali, degenerazione grassa circoscritta ad alcune cellule striate del cuore, ed alterazioni del sangue, dalle quali deriverebbe poca capacità da parte dei globuli rossi di fissare l'ossigeno, e da ciò le alterazioni viscerali, che anche lo *Ziegler* non sa decidere fino a qual punto siano da attribuirsi all'azione diretta dell'alta temperatura e fino a qual punto alle alterazioni dei globuli rossi.

Una giusta osservazione fa lo *Czyhlarz* (4) che cioè l'esame del fegato per decidere se vi abbia il riscaldamento artificiale determinato la degenerazione grassa non ha grande valore, quando si pensi che si è in presenza di un organo che già allo stato normale può mostrare tale degenerazione, che dall'autore non fu poi nemmeno trovata nei reni, nel cuore e nei muscoli.

---

(1) NASAROFF, *Ueber die Bedeutung der künstlich hervorgerufenen Schwankungen seiner Temperatur für den Thierorganismus.* Dissert. 1881. St. Petersburg.

(2) NAUNYN, *Kritisches und Experimentelles zur Lehre vom Fieber und von der Kaltwasserbehandlung.* Archiv. für exper. Pathol. u. Pharmak., B. XVIII.

(3) WERHOWSKY, *Untersuchungen über die Wirkung erhöhter Eigenwärme auf dem Organismus.* (Ziegler's Beiträge, Band XVIII, 1895).

(4) Vedi Centralblatt f. innere Medicin, 1899, n. 29, riportato nella Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche, 1899, n. 98.

Il *Bentivegna* (1) fa sulle cavie soprariscaldamento rapido, mettendole in termostato ad una temperatura che non supera i 43°; soprariscaldamento di media intensità, alla temperatura di circa 40°, alla quale l' animale resiste oltre 40 ore, e soprariscaldamento modico ed interrotto per un' ora circa al giorno a 40°-42°. Trova distese ed ampliate nel fegato le diramazioni biliari e sanguigne, iperemie ed emorragie interstiziali ed interlobulari, lieve infiltrazione parvicellulare nel connettivo interstiziale, con lieve periarterite, periflebite e periangiocolite; tumefazione torbida delle cellule epatiche, frammentazione del protoplasma quando il riscaldamento è prolungato, e degenerazione grassa nei casi in cui l' ipertermia fu mantenuta più a lungo.

Reperto nuovo dell'autore è quello della presenza di goccioline minutissime di grasso, rese evidenti colla fissazione in liquido di *Flemming*, nell' interno del nucleo, reperto il quale confermerebbe l' importanza grande data dal *Trambusti* (2) al nucleo nelle funzioni secretorie della cellula epatica.

Le alterazioni ottenute dal *Bentivegna* nei reni decorrono in modo parallelo a quelle del fegato: si ha cioè tumefazione torbida diffusa degli epiteli renali, alla quale si accompagna frammentazione del protoplasma, se il riscaldamento è prolungato. Si arriva alla degenerazione grassa quando il riscaldamento è di ancora maggior durata e più spesso negli epiteli delle anse di *Henle* e dei canalicoli retti che in quelli dei tubuli contorti.

Si ha inoltre glomerulite, la cui gravità è proporzionale all' aumento di durata del riscaldamento, lieve periarterite e periflebite, iperemia diffusa e talora piccoli focolai emorragici intraglomerulari ed interstiziali.

L'autore insiste sulla dimostrazione che nell' ipertermia sperimentale la degenerazione grassa degli elementi epatici e

(1) Bentivegna, *Le alterazioni delle cellule epatiche e renali nell'ipertermia sperimentale.* (Lo Sperimentale, 1900).

(2) Trambusti, *Contributo alla fisiopatologia della cellula epatica.* Pubblicazioni del Laboratorio di Anatomia dell' Università di Roma, 1896.

renali, la quale si manifesta dopo un lungo riscaldamento, è preceduta sempre dalla tumefazione torbida.

Come abbiamo già ricordato, scopo delle nostre esperienze sul riscaldamento era di avvicinarci il più possibile alla temperatura di 55°. Ed abbiamo fatto un soprariscaldamento rapido, in cui la massima temperatura compatibile colla vita dell'animale (52°-53°) era raggiunta dopo un'ora e mezzo, ed un soprariscaldamento interrotto, in cui cioè gli animali venivano messi per un'ora al giorno in termostato, finchè l'ultimo giorno si cagionava la morte, aumentando la temperatura.

Tutti i ricercatori citati hanno sperimentato allo scopo di produrre nn'ipertermia che si avvicinasse alla febbre dell'uomo ed avevano sempre oscillato fra temperature di 38°-42°. Perciò le alterazioni istologiche che determinano negli organi degli animali le temperature alte alle quali noi siamo giunti crediamo che da molti non siano state studiate. Ricordiamo qui ancora il *Nasaroff* (1), i cui reperti negli organi degli animali in seguito al riscaldamente a 40°-51° collimano perfettamente con quelli che noi ora riferiamo.

Fegato e rene furono fissati in alcool ed in liquido di *Hermann*. Le sezioni furono colorate colla cocciniglia alluminata, colla safranina o colla colorazione doppia di ematossilina e safranina e successivo differenziamento con alcool picrico.

Il fegato di coniglio riscaldato nello spazio di un'ora e mezzo a temperatura che andò crescendo sempre, fino a raggiungere quella mortale di 52°-53°, presenta elementi rigonfiati, il cui protoplasma granuloso è interrotto da spazi vuoti irregolari, in modo da assumere l'aspetto di un reticolo a maglie assai grosse. I prodotti della disgregazione oltrepassando i limiti dell'elemento cellulare hanno in parecchie zone determinato la fusione delle cellule; in altre zone vi sono spazi vuoti che per la forma regolarmente rotonda e per i margini molto netti mostrano all'evidenza di essere stati occupati da

(1) Op. cit.

goccie di grasso. La quantità loro, non più abbondante di quella che può trovarsi talora anche normalmente in fegati di alcuni conigli, già fa escludere che si tratti di una conseguenza del riscaldamento. Questa interpretazione starebbe del resto contro ciò che affermano tutti i ricercatori, i quali in simili esperimenti trovarono la degenerazione grassa solo quando il riscaldamento era assai prolungato ed è smentita pure dal reperto ottenuto nel fegato di un coniglio riscaldato allo stesso modo per un' ora e mezzo.

La fissazione con liquido di *Hermann* mostrò coloriti in nero dall'acido osmico scarsissimi e minutissimi granuli in pochissime cellule, come sempre si riscontra nel parenchima epatico normale: come nel primo esperimento, si vedono diffuse ed avanzate la necrosi e la disgregazione del protoplasma. A queste alterazioni si accompagna una intensa stasi sanguigna e della vena centrale del lobulo e dei capillari intraacinosi.

Lesioni di ugual natura, ma più avanzate, si notano in quegli animali (conigli e cavie) che furono riscaldati per tre giorni; la disgregazione è giunta quasi al punto che non si riconoscono più i limiti di parecchi elementi, le cellule sono generalmente molto rigonfiate ed alcune prive affatto di protoplasma, parecchi nuclei pure sono andati incontro a fatti regressivi, presentandosi di rado rigonfiati, o più spesso raggrinzati, atrofici, a margini anfrattuosi, con fondo diffusamente colorato dalla cocciniglia e dall'ematossilina e sostanza cromatica disposta a zolle uniformi omogenee tinte assai intensamente ed unite insieme in modo da formare degli ammassi in forma lobulata di mora o di ferro di cavallo.

Tutte queste alterazioni procedono progressivamente fino alla distruzione completa del parenchima epatico nelle cavie riscaldate per 6-8-9 giorni. La fusione fa allora perdere in molte zone l'aspetto raggiato degli ordini delle cellule epatiche, e sotto certi campi del microscopio non è più possibile riconoscere la struttura del fegato, trovandosi alla presenza di ammassi di protoplasma granuloso, in mezzo al quale stanno irregolarmente disposti dei nuclei colorati intensamente ed in modo diffuso, assai atrofici e raggrinzati. Le tonache dei vasi

sanguigni sono rigonfiate, rigonfio pure e distaccato dall'intima è l'endotelio: in degenerazione torbida con vacuoli nell'interno del protoplasma, con disgregazione e successiva fusione dei vari elementi cellulari fra loro si presenta l'epitelio di rivestimento dei canali biliari. In base a questi reperti siamo autorizzati a concludere che non vi è traccia di degenerazione grassa nel fegato d'animali sottoposti al soprariscaldamento in termostato ad alte temperature (40°-50°) per un'ora al giorno e per un periodo di 8-9 giorni.

Degenerazione grassa assai spiccata troviamo invece nel fegato delle cavie morte in seguito a tre o due iniezioni di sangue di coniglio riscaldato a 55°.

Tale degenerazione è così intensa ed occupa in modo diffuso tanti lobuli, ostacolando così indubbiamente la funzione dell'organo, che non possiamo invocare per spiegarli l'argomento, che pure abbiamo riconosciuto giusto, di *Czyhlarz*, che cioè possa essere un fatto preesistente all'esperimento; all'esperimento stesso dobbiamo invece crederla dovuta, confortati anche dalla circostanza che essa degenerazione vedemmo verificarsi quando l'animale sopravvisse al maggior numero di iniezioni e per un tempo maggiormente lungo. Nelle cavie infatti morte in seguito ad una sola iniezione di sangue di coniglio riscaldato a 55° si ha piuttosto che una degenerazione grassa un rigonfiamento torbido delle cellule epatiche accompagnato ad alterazioni nel nucleo, che si presenta atrofico, raggrinzato, con sostanza cromatica omogenea ed assai intensamente colorata dalla cocciniglia e dalla ematossilina, con segni evidenti cioè che si va istituendo la cromatolisi.

Ci sembra per ora di grande importanza il tenere presente che il quadro delle lesioni istologiche nel fegato delle cavie che hanno sopravvissuto di più, sopportando un maggior numero di iniezioni di sangue a 55° di coniglio, si avvicina a quello descritto da tutti gli autori nel riscaldamento artificiale molto prolungato; molto simili a quelle che abbiamo descritto nei riscaldamenti piuttosto rapidi sono le alterazioni dei fegati di cavie morte in seguito ad una sola iniezione di sangue a 55°.

Il rene subisce in seguito al soprariscaldamento, come noi lo abbiamo fatto, alterazioni pure gravissime e che basterebbero da sole a spiegare la morte degli animali. Così pure nell' alterata o diremo meglio nella soppressa funzione di tale organo troviamo abbastanza per renderci ragione dell' esito letale ottenuto nelle cavie in seguito ad iniezioni di sangue riscaldato di coniglio.

Infatti nelle due serie di esperimenti trovammo all' esame istologico lesioni gravissime e molto simili. È colpito principalmente l' epitelio; le alterazioni vanno dal rigonfiamento torbido alla necrosi ed alla disgregazione totale del protoplasma, in grembo al quale mai ci è occorso di scorgere traccia di degenerazione grassa.

Pur essendo la degenerazione torbida e la disgregazione diffuse a tutto l' organo, in certe zone abbiamo visto essersi verificate le alterazioni maggiori, inquantochè in esse di preferenza le cellule epiteliali rigonfiate o si fondono per formare un ammasso di detriti granulosi, che frammisti ai nuclei occupano tutto il canalicolo otturandone completamente il lume, oppure si disgregano al punto da aversi distruzione completa del protoplasma, con residuo in vicinanza della membrana di basamento soltanto dei nuclei disposti in serie lineare.

Negli animali riscaldati più a lungo e negli animali che hanno ricevuto maggior numero di iniezioni di sangue riscaldato sono più gravi le alterazioni descritte e ad esse si aggiungono fatti regressivi del nucleo, quali atrofia, raggrinzamento e maggiore intensità nell' assumere le materie coloranti da parte della sostanza cromatica, disposta non più a reticolo, ma ad ammassi irregolari ed omogenei. Nei glomeruli di *Malpighi* rispettata è generalmente la capsula e nella sua continuità e nella costituzione del suo epitelio di rivestimento, l' ansa è assai spesso raggrinzata.

Dall' insieme di questi dati fornitici dall' esame istologico dei reni vediamo di essere presenti a processi degenerativi e necrobiotici più che a fatti infiammatori, e questo giudizio dobbiamo formulare anche per gli altri organi, cioè fegato e centri nervosi, tanto negli animali (conigli e cavie)

riscaldati, come nelle cavie che morirono in seguito ad iniezione di sangue di coniglio a 55°.

L'esame microscopico della milza pone in evidenza in tutti gli animali quantità abbondante di pigmento sanguigno libero od entro gli elementi (cellule pigmentifere), a piccoli granuli o a grandi blocchi isolati od a cumuli. Mentre questo reperto ha negli animali sottoposti al riscaldamento importanza come indizio di una distruzione di globuli rossi, un simile significato non gli può senza altro essere attribuito quando lo si osserva nelle cavie iniettate di sangue riscaldato, perchè è impossibile decidere a qual punto cessi di rappresentare il prodotto del disfacimento dei globuli rossi di coniglio che si sono iniettati.

Conclusioni e considerazioni.

Riassumendo le nostre ricerche sperimentali, possiamo formulare le conclusioni seguenti:

I. La produzione di emolisina non viene influenzata in alcuna maniera dall'elevata temperatura cui vengono esposti o i conigli fornitori del sangue o le cavie riceventi il sangue.

II. Sangue riscaldato alla temperatura di 55°-60° di coniglio normale è tossico per la cavia, producendone la morte a diverso intervallo di tempo e dopo un numero di iniezioni che varia da una a quattro.

III. Queste differenze sul modo di reagire delle cavie sono dovute molto probabilmente al diverso grado di tossicità che acquista il sangue dei conigli riscaldato *in vitro* dopo la defibrinazione.

IV. Il riscaldamento a 55° del sangue di coniglio non ne esalta il potere emolitico del siero verso i globuli rossi di cavia.

V. Il soprariscaldamento di conigli e cavie a temperatura che raggiunge i 52°-53° determina nelle cellule nervose fusione, disgregamento e scomparsa delle zolle cromatofile; degenerazione vitrea degli elementi gangliari quando il calore abbia agito per lungo tempo.

Nel fegato tumefazione torbida e necrobiosi delle cellule epatiche. Nel rene stasi sanguigna diffusa, degenerazione torbida, necrosi e distruzione del protoplasma negli epiteli, raggrinzamento di qualche ansa dei glomeruli. Nella milza la comparsa di abbondante pigmento ematico.

VI. Le cavie morte in seguito ad iniezioni di sangue di coniglio a 55° presentano le seguenti lesioni viscerali:

Nelle cellule nervose disgregamento e fusione delle zolle cromatofile, irregolarità del contorno di molti elementi ganglionari, atrofia e raggrinzamento del nucleo.

Nel fegato degenerazione grassa avanzata negli animali sopravvissuti maggior tempo, negli altri rigonfiamento torbido del protoplasma, atrofia e cromatolisi del nucleo.

Nel rene degenerazione torbida, necrosi e disgregazione del protoplasma degli epiteli dei canalicoli, principalmente nella parte midollare dell' organo; raramente è sclerosata l' ansa del glomerulo. Si nota spesso stasi sanguigna diffusa.

A questi fatti ci sembra opportuno di aggiungere qualche considerazione.

Le alterazioni viscerali sono simili negli animali soprariscaldati e negli animali iniettati con sangue riscaldato: questo potrebbe far supporre che le modificazioni di struttura negli elementi cellulari siano nel riscaldamento artificiale secondarie alle modificazioni del sangue e che il calore danneggi l' organismo, solo perchè altera il sangue.

Se così fosse, il sangue riscaldato fuori dell' organismo dovrebbe diventare tossico per gli individui della specie dell' animale fornitore del sangue stesso, ciò che abbiamo visto non essere vero, perchè il sangue di cavia riscaldato a 55°-60° non è tossico per la cavia e sangue di coniglio pure a 55°-60° non è tossico per il coniglio.

Noteremo poi che le alterazioni riscontrate negli organi parenchimatosi non sono specifiche del riscaldamento artificiale; neppure le potremo dire specifiche quali conseguenza di iniezioni di sangue riscaldato, perchè molti dei veleni che agiscono sull' organismo determinano necrobiosi nei reni e nel fegato.

Sul meccanismo di formazione poi dei fenomeni regressivi prodotti dalle iniezioni di sangue riscaldato non abbiamo dati che ci autorizzino a formulare un' ipotesi. Le lesioni degli organi parenchimatosi, e specialmente la degenerazione grassa che si riscontra negli animali a lungo riscaldati è da qualche autore, come il *Litten* ed il *Werhowsky*, spiegata colla deficiente fissazione dell' ossigeno da parte dei globuli rossi alterati dal calore, il quale infatti arriva talora al punto da produrre una completa dissoluzione dei globuli rossi stessi in mezzo al loro plasma.

Non sembra che si possa invocare la stessa causa negli animali morti in seguito ad iniezione di sangue riscaldato, e perchè i globuli rossi si mantengono, almeno morfologicamente, normali, e si vedono all' esame microscopico poche emazie frammentate probabilmente appartenenti al sangue iniettato, e perchè il siero estratto dal sangue di coniglio dopo il riscaldamento a 55° non presenta aumentato il potere emolitico verso i globuli rossi di cavia.

Potranno istituirsi altre ricerche per rintracciare la causa della morte delle cavie in seguito ad iniezione di sangue riscaldato di coniglio, cioè si potrà studiare con maggiore dettaglio il sangue, e non solo dal punto di vista morfologico, e ricercare come si comporti il ricambio di questi animali.

Diremo intanto che fu negativo l' esame delle orine fatto in una cavia per tutta la durata dell' esperimento. I reperti quotidiani si mantennero sempre eguali a quello ottenuto prima di cominciare le iniezioni di sangue riscaldato, cioè la quantità media di orina nelle 24 ore presso a poco eguale, la reazione fortemente alcalina, i fosfati abbondanti, l' albumina ed il glucosio assenti e l' urea in proporzioni quasi sempre eguali.

Sarebbe poi anche interessante il ricercare se il fatto da noi provato per il sangue di coniglio sulla cavia si verifichi anche prendendo altre due specie di animali d' esperimento; se cioè il sangue di un animale, normalmente non tossico per un altro animale, lo diventi invece in seguito al riscaldamento fuori dell' organismo. Ci sembrò opportuno fare per

ora il tentativo sopra un coniglio, il quale ricevette iniezioni sottocutanee due volte di circa 8 cc. e una terza volta di 12 cc. di sangue di cavia riscaldato a 55°-60°. Il coniglio si mantenne sempre sano.

Abbiamo creduto bene di riferire intanto l' esito di questi nostri esperimenti. Ricerche che si potranno continuare sull' argomento speriamo che portino maggiore luce sul fenomeno, specialmente sul meccanismo della sua produzione.

Padova, luglio 1902.

Spiegazione delle Tavole.

Tavola I.

Fig. 1ª. — Riscaldamento rapido in una sol volta (40°-53°), ore 1 $^1/_2$. Midollo spinale di coniglio. Scomparsa totale delle zolle cromatofile di Nissl. La cellula si può dividere in due parti, di cui una più colorata e con vacuoli, e una meno colorata dal bleu di metilene. La parte più pallida è costituita di granuli piccolissimi e presenta margini sfumati.

Questa cellula nervosa, come le altre delle tavole, sono un ingrandimento di tre volte da come si osservavano sotto il campo del microscopio Reichert. Oc. 4, Obb. immersione $^1/_{12}$.

Fig. 2ª. — Cellula di midollo spinale dello stesso coniglio, in cui le alterazioni sono meno avanzate. Il protoplasma è costituito da grandi blocchi uniformemente colorati dal bleu di metilene risultanti dalla fusione di zolle cromatofile.

Fig. 3ª. — Cellula nervosa di midollo spinale di cavia riscaldata interrottamente da 40° a 50° per 6 giorni. Scomparsa delle zolle cromatofile, aspetto reticolare del protoplasma, raggrinzamento del nucleo. Metodo di Nissl.

Fig. 4ª. — Cellula nervosa di midollo spinale di cavia iniettata due volte con sangue di coniglio a 55° e vissuta 15 giorni.

Le zolle cromatofile non sono del tutto scomparse; si presentano piuttosto frammentate, non è evidente il nucleo, evidente il nucleolo. Metodo di Nissl.

Fig. 5ª. — Cellula nervosa del bulbo di cavia iniettata due volte con sangue di coniglio a 55°, vissuta 7 giorni. A un polo della cellula si vedono ancora abbastanza conservate le zolle cromatofile, all' altro polo un blocco intensamente colorato sta a rappresentare la fusione di zolle

cromatofile. Nella parte centrale della cellula è avvenuta la scomparsa totale di queste zolle. Metodo di Nissl.

Fig. 6ª. — Cellula grande piramidale del cervello della cavia precedente. Una delle maggiormente conservate. Zolle cromatofile ancora visibili, ma più piccole del normale. Margini irregolari e sfumati specialmente alla base della cellula; nucleo a margini irregolari. Metodo di Nissl.

Tavola II.

Fig. 1ª. — Cellula del cervello di cavia riscaldata interrottamente da 40° a 50° per 6 giorni.

Fig. 2ª. — Cellula del midollo spinale di cavia soprariscaldata.

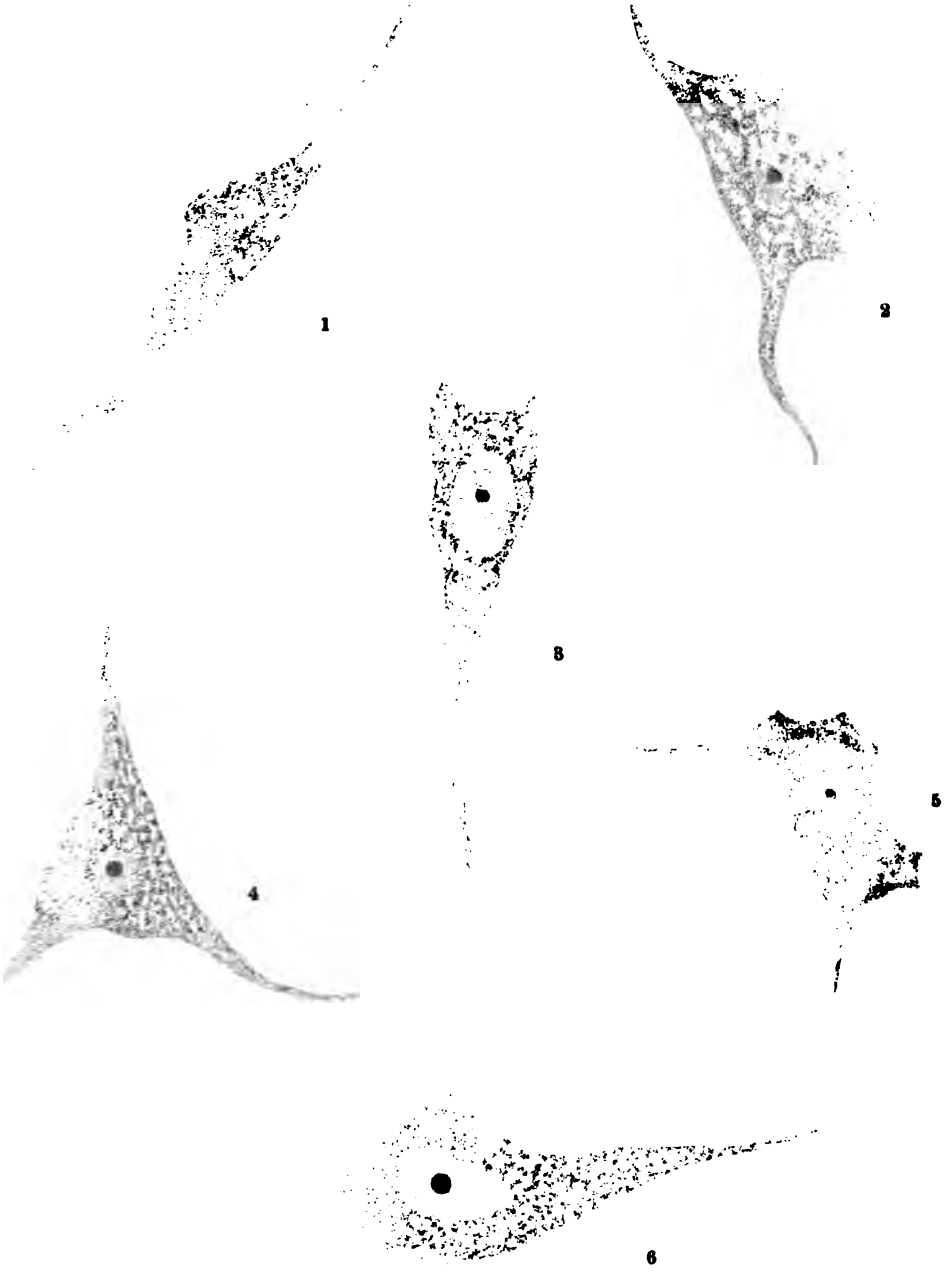
In queste due cellule colorate col rosso neutrale sono evidenti gli stessi fatti messi in rilievo dal metodo di Nissl, cioè più o meno completa scomparsa delle zolle cromatofile.

Fig. 3ª. — Fegato di cavia riscaldata come nella fig. 1ª. Necrosi e fusione di cellule epatiche, atrofia e raggrinzamento dei nuclei. Cocciniglia alluminata. Reichert, Oc. 3, Obb. 8.

Fig. 4ª. — Fegato di cavia iniettata due volte con sangue di coniglio a 55° e vissuta 15 giorni. Degenerazione grassa delle cellule epatiche, fusione degli elementi fra loro. Cocciniglia alluminata. Reichert Oc. 3, Obb. 8.

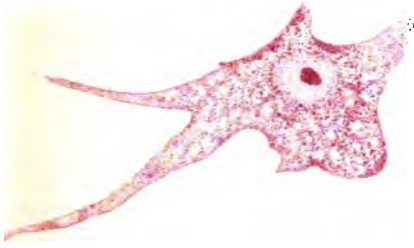
Fig. 5ª. — Rene di cavia riscaldata. Necrosi degli epiteli dei canalicoli contorti, scomparsa completa dei limiti delle cellule. Protoplasma ridotto a granuloso detrito. Atrofia dei nuclei. Il glomerulo è raggrinzato. Cocciniglia alluminata. Reichert Oc. 3, Obb. 8.

Fig, 6ª. — Rene della cavia di cui alla fig. 4ª. Necrosi dell'epitelio dei canalicoli contorti; in taluni è scomparso il limite fra cellula e cellula. Protoplasma ridotto a detrito granuloso. Atrofia dei nuclei; il glomerulo è raggrinzato. Cocciniglia alluminata. Reichert Oc. 3, Obb. 8.



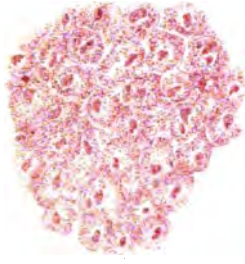
GENTA *dis. inc.*

Stab. Prosperini - Padova

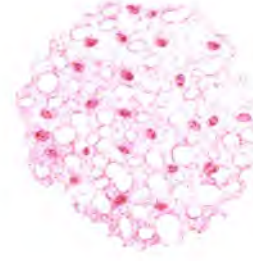


1

2



3



4

5

6

GENTA *dis. inc.*

Stab. Prosperini - Padova

Laboratorio chimico dell' Istituto patologico di Berlino
diretto dal Prof. E. Salkowski.

SUL CONTENUTO LECITINICO DEL FEGATO, DEI RENI E DEL CUORE

NELLA DEGENERAZIONE ADIPOSA SPERIMENTALE

PEL

DOTT. GUSTAVO LUSENA

Libero Docente di Patologia generale a Genova.

La differenza netta, decisa, che fino ad un ventennio addietro si faceva dai patologi fra la infiltrazione adiposa e la degenerazione adiposa, specialmente per la patogenesi, è andata via via attenuandosi ed oggi tenderebbe, per opera di alcuni, a scomparire affatto. Ricordo come già da molti anni si tenesse poco calcolo del criterio anatomo-patologico macroscopico e come si discutesse vivamente sul valore minimo nella diagnosi differenziale del criterio isto-patologico.

I vari caratteri microscopici, che da molti si stabilivano a distinguere l'un processo dall'altro, si dimostrarono destituiti di fondamento mano mano che si riconoscevano comuni alla infiltrazione ed alla degenerazione adiposa. Per queste ragioni veniva naturale e logico il pensiero che o i mezzi istologici d'esame fossero insufficienti a farci conoscere la vera differenza tra i due processi o i due processi fossero da considerarsi riuniti e costituenti la stessa entità.

Siccome in questo lavoro non intendo soffermarmi sulla anatomia patologica dei due processi morbosi, così tralascio buona parte della letteratura, che non ha attinenza colle ricerche chimiche, di cui intendo render ragione in queste pagine. Accenno soltanto per incidenza come dei varî caratteri

già ammessi per differenziare la cellula degenerata in grasso dalla cellula semplicemente infiltrata rimanga unico, di valore quasi indiscusso, quello relativo alle alterazioni nucleari. Sembra infatti ché l'alterazione del nucleo sia l'unico segno, che la cellula ci mostri nella cosiddetta degenerazione adiposa. Gli studî altrui, che verrò ricordando, tendono a fare scomparire anche la differenza eziologica e patogenetica tra l'origine e la presenza del grasso cellulare nell' uno e nell' altro dei due diversi stati morbosi.

Dopo i primi studî sulle alterazioni indotte in vari organi dall' azione tossica del fosforo e dopo quelli di *Saikowski* (1) estesi allo studio dell' azione dell'arsenico e dell' antimonio e dopo gli ulteriori di *Ziegler* e *Obolonsky* (2) sullo stesso argomento, si venne a stabilire che la presenza di grasso nelle cellule del fegato, dei reni, del cuore ecc., fosse dipendente da una diretta trasformazione delle sostanze albuminose costituenti il protoplasma cellulare in adipe. Il rigonfiamento torbido che regolarmente, per un tempo più o meno breve a seconda della gravezza dell'intossicazione, si osserva negli organi, come prima alterazione, si intese come un processo intermedio e lo stato granuloso della cellula in questo periodo si definiva come uno stato di passaggio verso la trasformazione dei granuli albuminosi in gocciole adipose. L'accumulo di gocciole grassose in queste intossicazioni sperimentali era da considerarsi di origine cellulare e per ciò da distinguersi completamente dall' accumulo di gocciole grassose, le quali dall'esterno penetrano nella cellula e che costituiscono tanto nello stato normale, quanto in quello patologico la infiltrazione adiposa.

Dalle mie ricerche bibliografiche parmi potere affermare che il primo studio rigorosamente sperimentale sorto a confutare il modo di origine del grasso nella degenerazione adiposa

---

(1) Saikowski, *Ueber die Fettmetamorphose der Organe nach innerlichem Gebrauch von Arsenik, Antimon und Phosphor-Präparaten.* (Virchow's Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie, Bd. XXXIV, 1865).

(2) Ziegler e Obolonsky, *Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Arseniks und des Phosphors auf die Leber und die Nieren.* (Ziegler's und Nauwerck's Beiträge zur pathologischen Anatomie und Physiologie, Bd. II, 1888).

sia quello di *Lebedeff* (1). Questi alimentò un cane con carne magra ed olio di lino per lo spazio di una settimana e mezza, dando complessivamente grammi 2680 di carne magra e grammi 2015 di olio di lino. Il cane, che in questo periodo era aumentato in peso di un chilogrammo, fu tenuto per 24 ore a digiuno e quindi avvelenato col fosforo. Si trovò alla ricerca chimica che su cento parti di grasso epatico, il 23 °/₀ era dato da acidi grassi solidi e le restanti 67 parti erano costituite per 1/5 da acido oleico e per 4/5 da acido linoleico allo stato di oleato e linoleato di glicerile. *Lebedeff* concluse che l'olio di lino, che s'era raccolto nei normali depositi di grasso, da questi era andato accumulandosi nelle cellule epatiche per l'avvelenamento da fosforo, per cui il processo di degenerazione adiposa ritenuto classico in questo avvelenamento per l'origine del grasso, era da riportarsi ad un semplice processo di infiltrazione. Il metodo introdotto da *Lebedeff* per lo studio di questa importante questione, fu, come vedremo, seguito con successo e con qualche variante anche da altri, i quali ebbero per oggetto la dimostrazione dell'origine extra-cellulare del grasso nella degenerazione. Nello stesso tempo altri ricercatori si occuparono sperimentalmente di escludere in modo assoluto o di ammettere, che, in parte, alla formazione del grasso nella degenerazione potessero contribuire anche le sostanze albuminose del protoplasma.

Dopo gli studi specialmente di *Hundeshagen* (2), pei quali si stabilì la vera natura chimica della lecitina e la possibilità di ottenerla anche per sintesi, si venne attribuendo a questa sostanza una parte importantissima nella trasformazione delle sostanze albuminose in gocciole adipose. Ricordo gli studi chimici di *Gibson* (3) e quelli più recenti di *Kossel* (4). I primi, che

---

(1) Lebedeff, *Woraus bildet sich dass Fett in Fällen der acuten Fettbildung?* (Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. XXXI, 1883).

(2) Hundeshagen, *Zur Synthese des Lecithins.* (Journ. für prakt. Chemie, 28, 1883).

(3) Gibson, *Beiträge zur Kenntniss des Lecithins.* (Zeitschrift für physiol. Chemie, 12, 1888).

(4) Kossel, *Chemische Zusammensetzung der Zelle.* (Dubois-Reymond's Archiv (Physiol. Abtheilung), 1891).

completarono i precedenti di *Hundeshagen*, stabilirono come tale sostanza sia scomponibile in acido glicero-fosforico, in acidi grassi ed in una base (colina o neurina). La dimostrazione che la lecitina proviene dall'albumina (*Miescher* (1)) ma non direttamente da quella alimentare (*Bokay* (2)) stabilisce che essa è costituita nella cellula stessa e la dimostrazione che fra i suoi prodotti di scissione si ottengono acidi grassi (stearico, oleico, ecc.) hanno fatto ragionevolmente credere, che, se le sostanze albuminose della cellula potessero trasformarsi in grasso nella degenerazione adiposa, fosse la lecitina il materiale di passaggio nella trasformazione di quelle in adipe.

Già da quando si sospettava, più che non s'era rigorosamente dimostrata, la vera composizione chimica della lecitina, *Dastre* e *Morat* (3) riguardarono le goccioline, che si colorano in nero coll'acido osmico e che si trovano nelle cellule renali con degenerazione adiposa, come costituite di lecitina.

Giova intanto ricordare, come normalmente possano dimostrarsi in molti organi, goccioline, le quali hanno l'aspetto e molte reazioni micro-chimiche del grasso, senza che siano grasso. Sono quelle goccioline, comprese sotto il nome generico e non proprio di mielina, che furono studiate, anche dal punto di vista della importanza loro in patologia, da *Zoia* (4), da *Müller* (5), da *Schmidt* (6), ecc., e che di recente dettero luogo a due importanti lavori di *Kaiserling* (7) ed *Orgler* (8). Tali

(1) Miescher, Archiv für Anatomie und Physiologie, 1881 (da Carbone).

(2) Bokay, *Verdaulichkeit des Nucleins und Lecithins.* (Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. I, 1887).

(3) Dastre e Morat, Gazette hebdomadaire, 1879 (dagli Annali di Maly, 1879).

(4) Zoia, *Sulla presenza di lecitina nelle cellule alveolari del polmone e sul significato semeiologico delle goccie mieliniche dello sputo.* (Gazzetta medica di Torino, anno XLV).

(5) Müller, Berliner klinische Wochenschrift, 1897, No. 4 (da Orgler).

(6) Schmidt, Berliner klinische Wochenschrift, 1897, No. 4 (da Orgler).

(7) Kaiserling ed Orgler, *Ueber das Auftreten von Myelin in Zellen und seine Beziehung zur Fettmetamorphose.* (Virchow's Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie, Bd. CLXVII, 1902).

(8) Orgler, *Ueber den Fettgehalt normaler und in regressiver Metamorphose befindlicher Thymusdrüsen.* (Virchow's Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie, Bd. CLXVII, 1902).

goccioline di mielina, sulla importanza delle quali in istologia non voglio qui intrattenermi, sono costituite di protagone o di lecitina (molto probabilmente di protagone, di cui la lecitina è un prodotto di scissione). Da organi normali e patologici può estrarsi lecitina e ne può essere valutata la quantità: resta da domandarsi però se la lecitina che noi possiamo estrarre dai varî organi preesistesse in essi o non piuttosto l'avessimo noi stessi prodotta agendo con i mezzi d'estrazione (alcool) sul protagone. Per lo studio nostro crediamo che l'avere affacciata questa ipotesi sia sufficiente, senza bisogno di intrattenervici più lungamente: sia protagone, sia lecitina, il possibile prodotto di passaggio tra le sostanze albuminose ed il grasso, noi valutando comparativamente la lecitina abbiamo un criterio esatto per sapere se il prodotto di passaggio sia o no aumentato nei processi degenerativi.

Se le sostanze albuminose per trasformarsi in grasso debbono prima divenire protagone o lecitina, è naturale che studiando il processo di degenerazione adiposa, per esempio da intossicazione fosforica, si debba avere nei primi stadî un aumento, negli ultimi una diminuzione di questo prodotto intermedio. Questo concetto chiaro e che doveva guidare sin dal primo momento tutti gli sperimentatori, che si occuparono di queste ricerche, fu stabilito esattamente soltanto da *Carbone* (1). *Leo* (2), studiando il contenuto lecitinico (non del solo fegato), in cavie e ratti avvelenati con fosforo, vide ch'esso poco varia. *Stolnikow* (3) invece studiando il contenuto lecitinico nel fegato di rane sane ed avvelenate con fosforo e tenute le une e le altre con determinato regime alimentare, vide che nelle avvelenate si aveva un aumento: cioè in rane sane tenute a digiuno la lecitina era del 3 %, mentre in rane avvelenate tenute a digiuno era del 3,9 %; in rane sane nutrite con zuc-

(1) Carbone, *Sur l'origine de la graisse dans les processus dégénératifs.* (Archives italiennes de Biologie, Tome XXVI, 1896).

(2) Leo, *Fettbildung und Fetttransport bei Phosphorintoxication.* (Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. IX, 1885).

(3) Stolnikow, *Vorgänge in den Leberzellen, insbesondere bei der Phosphorvergiftung.* (Dubois-Reymond's Archiv für Anatomie und Physiologie (physiol. Abtheilung) Supplement-Band, 1887).

chero del 3,7 %, mentre nelle avvelenate nutrite nello stesso modo era del 5,7 % ed infine in rane sane ed avvelenate, ma nutrite con peptone il contenuto aumentò da 4,5 % a 4,8 %.

Ricerche più estese sulla lecitina del fegato nell'avvelenamento da fosforo si debbono a *Heffter* (¹). Questi sperimentò su conigli e determinò in essi ed anche in un cane ed in un gatto il contenuto lecitinico normale. In media ebbe il 2,18 % (calcolando anche il contenuto del fegato di due conigli lasciati per 3 giorni a digiuno), con oscillazioni da 1,53 a 3,07 %, avvertendo che nei due conigli tenuti tre giorni senza cibo, ebbe in uno 1,51 % e nell'altro 1,39 % di lecitina epatica. Nell'avvelenamento da fosforo trovò una forte diminuzione del contenuto lecitinico, che diminuì fino al 50 %. *Heffter* ebbe pure occasione di estendere gli stessi studî al fegato umano; in un fegato sano di un giustiziato ebbe il 2,10 % di lecitina, nei fegati di tre avvelenati con fosforo, ebbe 1,50 % 1,82 % 1,37 %.

Questa enorme diminuzione, che potrebbe essere attribuita ad una avanzata trasformazione di sostanze albuminose in grasso, è considerata invece da *Heffert* come indice di semplice necrobiosi cellulare per azione del fosforo.

Lo studio di tale questione fu ripreso più di recente da *Carbone*. Egli partendo dal concetto che se la lecitina rappresenta la sostanza di passaggio tra le albuminose ed il grasso, essa debba aumentare nei primi periodi dell'avvelenamento da fosforo e diminuire negli ultimi, spiegò molto bene i risultati di *Leo*, di *Stolnikow* e di *Heffter*; aggiunse quindi una serie di esperienze nuove eseguite su cani. Per il metodo sperimentale originale, ma forse non scevro di errori, mi soffermo alquanto su queste ricerche. *Carbone*, per aver un criterio comparativo esatto tra il contenuto lecitinico allo stato normale e nella degenerazione grassa da fosforo, ricercò le variazioni di contenuto nello stesso animale. Egli resecava parte di un lobo o tutto un lobo epatico ad un cane per esaminarne il conte-

(¹) Heffter, *Das Lecithin der Leber und sein Verhalten bei der Phosphorvergiftung*. (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, 1891).

nuto lecitinico, quindi avvelenava con fosforo l'animale e poche ore dopo, quando l'organo era in istato di rigonfiamento torbido ed ancora lungi da presentarsi con spiccata degenerazione adiposa, uccideva l'animale studiando il contenuto lecitinico della porzione di fegato rimasta. Ebbe in questi casi un aumento della lecitina, la quale in un cane variò da 2,35 a 3,65 %. *Carbone* ad evitare l'obbiezione che l'atto operativo potesse influire sull'aumento osservato, avvelenò un cane senza operarlo preventivamente ed uccisolo nei primi stadi dell'intossicazione ebbe un contenuto lecitinico del fegato di 2,91 % cioè una cifra assai superiore alla media normale. Secondo me l'obbiezione dell'influenza dell'atto operativo meglio sarebbe stata evitata se si fosse studiato il contenuto lecitinico del lobo estirpato e successivamente quello dei lobi rimasti, senza procedere all'avvelenamento con fosforo.

Carbone ottenne risultati concordi anche nello studio della degenerazione grassa delle cellule renali nell'infarto sperimentale, valendosi dei risultati istologici precedentemente stabiliti da *Cesaris-Demel* (1). Nel rene in cui aveva prodotto l'infarto ed esaminato 6 ore circa dopo la legatura del vaso, trovò in rapporto al rene sano, un aumento del contenuto lecitinico, che in un caso fu rilevantissimo, da 1,12 % nel rene sano, a 2,05 % nel rene con infarto.

Risultati concordi con quelli di *Carbone* avrebbero avuto, or non è molto, anche *Balthazard* (2) e *Lépine* (3). Per *Balthazard* il contenuto lecitinico nella intossicazione da fosforo, come in certi altri stati morbosi può raddoppiarsi e triplicarsi; molto aumentato è pure il contenuto lecitinico nei cosidetti fegati grassi d'oca. Osservo però che la ipernutrizione,

---

(1) Cesaris-Demel, *Della rapida comparsa del grasso negli infarti renali in rapporto dei bioblasti di Altmann.* (Atti dell'Accademia Reale delle Scienze di Torino, 1895).

(2) Balthazard, *Des lécithines du foie.* (Comptes rendus de la Société de Biologie, 1901). — *Les lécithines des foies gras d'oie.* (Comptes rendus de la Société de Biologie, 1901).

(3) Lépine, *Sur la rélation existant entre l'état graisseux du foie (avec augmentation de la proportion de la lécithine hépatique) et le phosphore incomplètement oxidé de l'urine.* (Comptes rendus de la Société de Biologie, 1901).

a cui questi animali vengono sottoposti, può essere, indipendentemente dall'accumulo di grasso, la causa dell'aumento della lecitina epatica. In parte i risultati di *Balthazard* furono confermati da *Lépine*.

Di pari passo e fino ad epoche recentissime furono proseguite le ricerche dirette sulla formazione del grasso. *Bauer* (1), avvelenando con fosforo un cane reso magro da un prolungato digiuno ritrovò formazione di grasso negli organi parenchimatosi, e concluse ammettendo che scomparso per il digiuno l'adipe dai depositi normali, quello presente negli organi dovesse considerarsi come prodotto dalle sostanze albuminose.

Eseguite collo stesso indirizzo di *Lebedeff* furono rese note al Congresso Tedesco di Medicina Interna del 1897 le ricerche di *Rosenfeld* (2). Egli dimostrò che, avvelenando polli magrissimi con fosforo, non era possibile produrre in essi una degenerazione grassa del fegato, contraddicendo così con numerose esperienze a quelle incomplete di *Bauer*. Dimostrò ancora che in cani nutriti con grasso di montone, questo si raccoglie mano mano nei naturali depositi ed in uno di questi animali, successivamente intossicato, dimostrò che il grasso del fegato in piena degenerazione grassa sperimentale era in gran parte grasso di montone, proveniente perciò dal di fuori della cellula epatica. Ricordo come *Rosenfeld*, seguendo anche in questo *Lebedeff*, potè dimostrare che anche il grasso del latte è ben lungi dall'essere un prodotto di trasformazione delle sostanze albuminose, sibbene ricavato dai normali depositi del grasso alimentare. Dimostrazione che fu di recente confermata pure da *Cavazza* (3). *Rosenfeld* in modo reciso esclude che dalle sostanze albuminose possa prodursi grasso ed ammette che, per esempio nell'avvelenamento da fosforo si ha un'alterazione cellulare, per cui la cellula, per meglio as-

---

(1) Bauer, *Der Stoffumsatz bei der Phosphorvergiftung.* (Zeitschrift für Biologie, Bd. VII).

(2) Rosenfeld, *Giebt es eine fettige Degeneration?* (Verhandl. d. Kongres für innere Medicin in Berlin, 1897).

(3) Cavazza, *Sulla dottrina della degenerazione grassa.* (Il Policlinico, fasc. 31, 1902).

sicurare la sua esistenza, assorbe il grasso che le viene fornito dai normali depositi: ne consegue l'inesattezza dell'espressione *degenerazione adiposa*, che egli vorrebbe sostituita dalla seguente: *degenerazione cellulare con infiltrazione adiposa.*

Poco dopo questi studi di *Rosenfeld* furono pubblicate le interessanti ricerche di *Daddi* (1), il quale potè dimostrare, con un indiscutibile rigorismo scientifico come nell'avvelenamento da fosforo si abbia un vero e proprio trasporto di grasso dai normali depositi agli organi parenchimatosi, per il tramite delle vie linfatiche e sanguigne. Tralascio di dire di altre ricerche indirette sulla produzione del grasso nell'avvelenamento da fosforo ed accenno brevemente a quelle di *Kraus* e *Sommer* (2) ed a quelle recentissime di *Cavazza*. *Kraus* e *Sommer* nei topi normali ebbero come rapporto tra il contenuto di grasso del fegato e il grasso totale del corpo al massimo 2-3 %, mentre nell'avvelenamento da fosforo l'aumento del grasso epatico e la diminuzione del grasso nei depositi normali sono tali, che il rapporto suddetto arriva al 19 % ed anche a 45 %. *Cavazza* si valse dei metodi sperimentali di *Lebedeff* e di *Rosenfeld* e delle osservazioni di *Daddi* (3) relative al Sudan III.

Daddi com'è noto, propose nel 1896 l'impiego di questa sostanza colorante per la dimostrazione delle gocciole adipose, per cui essa ha grande affinità e dimostrò ancora, come il grasso previamente colorato e dato come alimento, conservi il suo colore rosso anche raccolto nel cellulare sottocutaneo. *Cavazza*, nutrendo animali (topi e cani) con grasso colorato, ed avvelenandoli in seguito con fosforo, riuscì a dimostrare le goccioline adipose rosse nelle cellule epatiche, mentre *Daddi*

---

(1) Daddi, *Sul peso dell' estratto etereo del sangue e della linfa nel digiuno di breve durata.* (Lo Sperimentale, anno LI, 1897).— *Sulle modificazioni del peso dell' estratto etereo del sangue durante il digiuno di lunga durata.* (Lo Sperimentale, anno LII, 1898). — *Sull' origine del grasso nell' avvelenamento da fosforo.* (Lo Sperimentale, anno LII, 1898).

(2) Kraus e Sommer, *Ueber die Bildung von Fett in thierischen Organismus bei Phosphorvergiftung.* (Verhandlungen der Deutschen Pathologischen Gesellschaft. Vierte Tagung, 1901).

(3) Daddi, *Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus.* (Archives italienne de Biologie, Tome XXVI, 1896).

aveva dimostrato che, alimentando animali con grasso colorato, le cellule epatiche normali rimangono incolore. Lo stesso metodo sperimentale servì a *Cavazza*, per confermare i risultati di *Lebedeff* e di *Rosenfeld* sull' origine del grasso del latte.

Brevemente riepilogando le notizie bibliografiche, può concludersi, che è senza dubbio dimostrato che la maggior parte del grasso raccolto nel fegato nella intossicazione fosforica, sia grasso d' infiltrazione e perciò non prodotto da trasformazione delle sostanze albuminose; che per quanto vi siano risultati apparentemente positivi, pure non possiamo sicuramente ammettere nè escludere che in piccola parte il grasso epatico, nella cosidetta degenerazione adiposa, non possa essere prodotto da trasformazione delle sostanze albuminose.

* * *

Io ho intrapreso delle ricerche chimiche per studiare questa seconda possibile origine dei grassi e più precisamente ho voluto, in parte seguendo *Carbone*, ricercare il contenuto lecitinico non solo del fegato, ma anche dei reni e del miocardio nell'avvelenamento acuto da fosforo e da arsenico. Praticai le mie ricerche sui conigli (mantenuti collo stesso regime dietetico) e seguii il seguente piano sperimentale.

In sei conigli sani ricercai il contenuto lecitinico del fegato, dei reni e del cuore ed in altri dieci il contenuto lecitinico nella degenerazione adiposa.

Il fegato veniva completamente isolato dagli organi vicini, liberato dalla cistifellea ed asciugato accuratamente con carta bibula, quindi pesato; i reni venivano pesati senza la capsula adiposa; il cuore con i vasi sezionati più corti che è possibile, le cavità aperte ed asciugate. Avuto il peso degli organi riducevo questi in minutissimi frammenti e di ciascuno degli organi sminuzzati prendevo una parte, che pesavo e nella quale ricercavo il contenuto di lecitina.

Il metodo chimico fu il seguente. L'organo finissimamente sminuzzato veniva estratto con alcool a 93° per 24 ore a temperatura ambiente. Dopo questo periodo filtravo ed il re-

siduo veniva estratto per altre 24 ore con alcool assoluto a temperatura ambiente, mentre il filtrato veniva evaporato lentamente a bagno-maria. Il secondo estratto con alcool assoluto filtrato veniva unito al residuo di evaporazione ed anche esso nel medesimo modo evaporato. Al residuo d'evaporazione si aggiungeva ancora un terzo filtrato d'estrazione con alcool assoluto a caldo, che aveva agito sull'organo per un'oretta, dopo averlo completamente raffreddato. Ricerche preliminari con fegato di bue mi avevano dimostrato, che, dopo il secondo estratto con alcool assoluto a temperatura ambiente, la quantità massima di lecitina, che poteva ancora estrarsi con alcool assoluto bollente ed agente per qualche ora, era appena del 0,05 °/₀. Il residuo definitivo d'evaporazione veniva disciolto in alcool assoluto a caldo e lasciato completamente raffreddare, l'alcool che in questo tempo aveva ridisciolto solo una parte del residuo veniva filtrato e di nuovo evaporato. Il nuovo residuo ancora una volta disciolto in alcool assoluto e questo di nuovo filtrato. Evaporazione, soluzione del residuo in alcool assoluto e filtrazione che io ripetevo fintantochè vi era una parte del residuo, che non si scioglieva in alcool assoluto. Generalmente tre o quattro evaporazioni successive erano sufficienti.

Nell'ultimo alcool filtrato io aveva disciolta la lecitina e piccole quantità di sali, fra cui alcuni fosforici. Evitavo di avere jecorina, non solubile in alcool assoluto. Aggiungendo all'ultimo filtrato un ugual volume di etere etilico e lasciando e sè per 24 ore, io ottenevo una soluzione in cui di sostanze fosforate non vi poteva essere che la lecitina, mentre i sali erano precipitati. Questa soluzione veniva evaporata, il residuo mescolato con la miscela di salnitro e carbonato sodico e bruciato in capsula di platino fino a fusione ed a scomparsa di ogni particella organica. Procedevo quindi alla determinazione quantitativa per pesate del pirofosfato di magnesio, seguendo esattamente le norme date nel *Practicum* del prof. *Salkowski* per la determinazione del fosforo nel contenuto intestinale. Calcolavo la quantità di lecitina valendomi del rapporto 111:71, tra il pirofosfato di magnesio e la anidride fosforica (P^2O^5) e

basandomi sulla cifra 8,798, che rappresenta approssimativamente il contenuto percentuale di $P^2 O^5$ nella lecitina.

Nelle seguenti tre tabelle espongo i risultati delle ricerche sui conigli normali:

Fegato.

Numero di protocollo	Peso dello animale in gr.	Peso del fegato in gr.	Rapporto per cento del peso totale	Contenuto lecitinico nell' intiero fegato	Contenuto lecitinico in 100 gr. di fegato	Media del contenuto lecitinico in 100 gr. di fegato
I	850	38.945	4 58	0.682	1.762	1.602
II	1110	41.76	3.76	0 6466	1.548	
III	1420	61.72	4.35	0.947	1.534	
IV	1400	53.69	3 83	0.792	1.475	
VIII	857	30.70	3 58	0.6223	2.027	
XIII	930	50.40	5.41	0.6392	1.268	

Rene.

Numero di protocollo	Peso dello animale in gr.	Peso dei reni in gr.	Rapporto per cento del peso totale	Contenuto lecitinico in ambedue i reni	Contenuto lecitinico in 100 gr. di rene	Media del contenuto lecitinico in 100 gr. di rene
I	850	9.21	1.08	0.155	1.682	2.086
II	1110	10.03	0.90	0 2062	2.055	
III	1420	10 36	0.72	0 1793	1.730	
IV	1400	8.47	0.60	0.177	2.089	
VIII	857	6.57	0.76	0.1641	2.494	
XIII	930	6 89	0 74	0.1700	2.467	

Cuore.

Numero di protocollo	Peso dello animale in gr.	Peso del cuore in gr.	Rapporto per cento del peso totale	Contenuto lecitinico in tutto il cuore	Contenuto lecitinico in 100 gr. di cuore	Media del contenuto lecitinico in 100 gr. di cuore
I	850	2.84	0 33	0.03188	1.120	
II	1110	3.16	0.28	0.03896	1.233	
III	1420	3.57	0.25	—	—	1.577
IV	1400	3.36	0.24	0.0690	2.005	
VIII	857	1.98	0.21	0.02737	1.382	
XIII	930	2.00	0.21	0 0429	2.145	

Da queste tabelle risulta dunque, che la media del contenuto lecitinico normale è: nel fegato di 1,602 °/₀, nei reni di 2,086 °/₀, nel cuore di 1,577 °/₀.

Per lo studio della degenerazione adiposa sperimentale avvelenai 10 conigli, in parte con fosforo bianco, in parte con acido arsenicico.

Espongo brevemente alcuni dati tolti dal protocollo delle esperienze.

Coniglio V. — Peso gr. 1380 (9 giugno 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,01 di fosforo bianco in 1 cc. d'olio di oliva. Si trova morto in meno di 24 ore.

Reperto necroscopico. — Peso gr. 1355, fegato iperemico, spappolabile, con rigonfiamento torbido e con qualche chiazza di degenerazione adiposa, reni torbidi, cuore apparentemente normale.

Coniglio VI. — Peso gr. 1470 (9 giugno 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,006 di fosforo bianco in olio d'oliva. Dopo 48 ore, essendo l'animale in agonia, viene ucciso con un colpo secco alla nuca.

Reperto necroscopico: — Peso 1290. Il fegato presenta una spiccata degenerazione grassa diffusa ed intensa, i reni sono pure fortemente degenerati, il miocardio, specialmente nei muscoli papillari, presenta chiazze di degenerazione grassa.

Coniglio VII. — Peso gr. 1070 (16 giugno 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,004 di fosforo bianco in olio d'oliva. Dopo 48 ore, essendo l'animale in agonia, viene ucciso come nell'esperienza precedente.

Reperto necroscopico. — Peso gr. 885, degenerazione grassa del fegato, dei reni e del miocardio, marcatissima, ma meno intensa che nell' esperienza sesta.

Coniglio IX. — Peso 1110 (23 giugno 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,005 di fosforo bianco in olio d'oliva. Morto dopo 50 ore, autopsia due ore dopo la morte.

Reperto necroscopico. — Peso 1025, fegato con rigonfiamento torbido e con incipiente degenerazione grassa non diffusa, reni con degenerazione grassa incipiente, cuore d'aspetto macroscopico normale.

Coniglio X. — Peso 1030 (23 giugno 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,005 di fosforo bianco. Essendo l'animale in agonia, viene ucciso dopo 30 ore dall'avvelenamento.

Reperto necroscopico. — Peso gr. 930. Fegato e reni con rigonfiamento torbido e degenerazione incipiente. Cuore d'aspetto normale.

Coniglio XI. — Peso gr. 1350 (2 luglio 1902). Iniezione sottocutanea di acido arsenicico, gr. 0,02, sciolto in acqua distillata. Morto in meno di 24 ore.

Reperto necroscopico. — Peso gr. 1280. Fegato con rigonfiamento torbido e con degenerazione grassa, reni con leggera degenerazione grassa, miocardio macroscopicamente normale.

Coniglio XII. — Peso gr. 1565 (3 luglio 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,01 d'acido arsenicico (6 luglio 902), seconda iniezione di gr. 0,01 (7 luglio 1902), terza iniezione di gr. 0,01 (8 luglio 1902), quarta iniezione di gr. 0,02. Muore il 9 luglio 1902, cioè circa 6 giorni dalla prima iniezione.

Reperto necroscopico. — Peso gr. 1420. Degenerazione grassa del fegato, spiccatissima, ma meno che nell'esperienza sesta. Reni aumentati molto di volume, con degenerazione grassa e con diffusione emoglobinica nella sostanza midollare. Miocardio con spiccata degenerazione grassa.

Coniglio XIV. — Peso gr. 770 (8 luglio 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,01 d'acido arsenicico (9 luglio 1902), seconda iniezione di gr. 0,01 (11 luglio 1902), terza iniezione di gr. 0,015. Il 12 luglio 1902, essendo l'animale in agonia viene ucciso.

Reperto necroscopico. — Peso gr. 575. Fegato con spiccata degenerazione grassa non diffusa. Ebbi una forma di degenerazione grassa identica a quella ottenuta collo stesso avvelenamento e descritta esattamente nel lavoro di *Saikowsky*, cioè in ogni acino si vedeva uno strato esterno rosso e la parte centrale intensamente gialla presentante nel suo centro assai visibile la vena. Reni fortemente degenerati. Così pure il miocardio.

Coniglio XV. — Peso gr. 2225 (10 luglio 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,03 d'acido arsenicico (13 luglio 1902), seconda iniezione di gr. 0,03. Il 14 luglio 1902 muore, cioè quattro giorni dopo la prima iniezione.

Reperto necroscopico. — Peso gr. 2050. Fegato e reni con rigonfiamento torbido e con incipiente degenerazione adiposa. Miocardio specialmente parietale del ventricolo destro con chiazze di degenerazione grassa.

Coniglio XVI. — Peso gr. 2595 (14 luglio 1902). Iniezione sottocutanea di gr. 0,03 d'acido arsenicico (15 luglio 1902), seconda iniezione di gr. 0,08. Il 16 luglio 1902, viene ucciso, senza avere ancora presentato fenomeni gravi.

Reperto necroscopico. — Peso gr. 2310. Fegato con spiccato rigonfiamento torbido e senza traccia di degenerazione adiposa. Reni con la sostanza corticale rigonfia, torbida e con la sostanza midollare di colore rosso chiaro per diffusione emoglobinica. Miocardio flaccido, senza segni di degenerazione.

Come si vede da queste note io ebbi sperimentalmente reperti anatomo-patologici diversi, che variarono dal semplice rigonfiamento torbido del fegato e dei reni con aspetto normale del miocardio all'avanzata e spiccata degenerazione grassa.

Nelle seguenti tabelle, come ho fatto per i conigli normali, espongo i risultati della ricerca quantitativa della lecitina.

Fegato.

Numero di protocollo	Peso dello animale in gr.	Peso del fegato in gr.	Rapporto per cento del peso totale	Contenuto lecitinico nell'intiero fegato	Contenuto lecitinico in 100 gr. di fegato	Media in 100 gr. di fegato
V	1355	61.25	3 78	1.010	1.648	
VI	1290	51.82	4.01	0.9212	1.778	
VII	885	40.845	4.55	0.5417	1.369	
IX	1025	47.40	4.62	0.8891	1 875	
X	930	36.96	3.97	0.7597	2.055	1.914
XI	1280	41.40	3.23	0.9192	2.220	
XII	1420	52.75	3.71	0.8027	1.521	
XIV	575	18.67	3.24	0.5069	2.715	
XV	2050	61.42	2.99	1.1259	1.833	
XVI	2310	73.45	3.17	1.5634	2.129	

Rene.

Numero di protocollo	Peso dello animale in gr.	Peso dei reni in gr.	Rapporto per cento del peso totale	Contenuto lecitinico in ambedue i reni	Contenuto lecitinico in 100 gr. di rene	Media in 100 gr. di rene
V	1355	10.55	0.77	0.1621	1.536	
VI	1290	9 05	0.70	0.2216	2.227	
VII	885	9.87	1.11	0.1962	1.988	
IX	1025	8.95	0.87	0.1929	1.936	
X	930	9.02	0 96	0.1646	1.824	1.856
XI	1280	9.15	0.71	0 2164	2.365	
XII	1420	16 55	1.16	0.2232	1.348	
XIV	575	7.88	1.38	0.1608	2 040	
XV	2050	17 00	0.82	0.2523	1.484	
XVI	2310	16.95	0.73	0.3082	1.818	

Cuore.

Numero di protocollo	Peso dello animale in gr.	Peso del cuore in gr.	Rapporto per cento del peso totale	Contenuto lecitinico in tutto il cuore	Contenuto lecitinico in 100 gr. di cuore	Media in 100 gr. di cuore
V	1355	3 50	0.25	0.0564	1.611	
VI	1290	2 98	0.23	0.0605	2.030	
VII	885	2.28	0.25	0.0364	1.596	
IX	1025	2.80	0.27	0.0745	2.660	
X	930	2.53	0.27	0.0474	1.875	1.767
XI	1280	3.50	0.27	0.0662	1 891	
XII	1420	4.62	0 32	0.0524	1.136	
XIV	575	1.90	0.33	0.0480	2.526	
XV	2050	5 26	0.25	0.0800	1.520	
XVII	2310	5.90	0.25	0.0487	0.825	

Da queste tabelle appare che le medie del contenuto percentuale di lecitina nel fegato, nei reni e nel cuore essendo rispettivamente di 1,914, 1,856, 1,767, di pochissimo variano dalle medie normali: chè se vi è un leggiero aumento del contenuto per il fegato e per il cuore, vi è una notevole diminuzione per il rene, ciò che secondo me sta ad indicare, come si tratti, anche negli organi degli animali avvelenati, di pure oscillazioni fisiologiche.

Che se si vuole entrare nei particolari delle cifre può vedersi come nel coniglio VI e XIV, in cui vi era spiccata degenerazione grassa del fegato, dei reni e del miocardio il contenuto lecitinico fu rispettivamente per il VI 1,778, 2,227, 2, 030; per il XIV 2,715, 2,040, 2,0526, vale a dire normale o superiore alla media normale. Se poi si considerino i casi V, XV e XVI si vede che la lecitina del fegato, dei reni e del cuore è in quantità piuttosto minore che maggiore della media normale, per quanto la degenerazione grassa o non fosse ancora comparsa o fosse appena incipiente, mentre spiccato era il rigonfiamento torbido. Aggiungo, a dare maggior valore ai fatti, che il reperto macroscopico in questi casi estremi fu confermato dalla reazione microchimica positiva e negativa (o quasi) coll'acido osmico in pezzetti fissati in liquido di *Flemming* e col Sudan III in pezzetti fissati in liquido di *Müller*, gli uni e gli altri direttamente sezionati con il microtomo congelatore. Ciò constatando, io sono ben lungi dal volere attribuire a questi reperti un qualsiasi valore causale e giudico molto meglio ammettere, che, nella degenerazione adiposa prodotta sperimentalmente con fosforo e con arsenico, la quantità di lecitina nel fegato, nei reni e nel cuore si mantiene nei limiti normali, per quanto io l'abbia determinata nei vari stati dell'intossicazione.

Resta a vedere come è possibile spiegare i risultati di *Heffter* e di *Carbone* fra loro opposti e diversi con i miei. Per quanto riguarda le ricerche di *Heffter* può ammettersi che l'avere esaminato solo nell'ultimo stadio della intossicazione gli organi, in essi parte della lecitina fosse andata distrutta non solo per l'azione del fosforo in sè, ma anche per l'azione dello stato di digiuno in cui per un certo tempo rimangono

gli animali malati, che secondo *Heffter* stesso fu capace di dare in due conigli, tenuti per tre giorni senza cibo, una notevolissima diminuzione della quantità di lecitina epatica. Più difficile è spiegare i risultati ottenuti da *Carbone*. Intanto è da domandarsi quale effetto abbia un atto operativo così grave quale l'asportazione di un lobo epatico sui lobi conservati, domanda che racchiude un'obbiezione, che secondo me *Carbone* non ha evitato. Per quanto concerne il reperto nei reni con infarto sperimentale, osservo che si tratta di una condizione diversa da quella in cui *Stolnikow*, *Leo*, *Heffter* ed io ci siamo posti. In tutte le esperienze di *Carbone* gli organi erano iperemici e se la maggior quantità di sangue, come dice giustamente *Carbone*, diminuisce piuttosto che aumentare la percentuale di lecitina, ciò deve attribuirsi al sangue normale con un rapporto fisiologico fra emazie e leucociti, mentre non può più assegnarsi un valore negativo o trascurabile, quando come nelle condizioni patologiche, sia nella resezione di un lobo epatico, sia nella legatura di un ramo arterioso renale, il rapporto fra le emazie ed i leucociti nell'organo venga di molto ridotto. Ora questa condizione è senza dubbio capace di fare aumentare e non diminuire la percentuale di lecitina.

Volendo rigorosamente riassumere le osservazioni altrui ed i risultati delle mie ricerche possono trarsi le seguenti conclusioni: 1° *È certo che nella degenerazione adiposa da intossicazione sperimentale la maggior parte del grasso contenuto negli organi degenerati è grasso di infiltrazione.* — 2° *Non può escludersi in modo assoluto, che una piccola parte di grasso sia di origine endocellulare e prodotta da trasformazione delle sostanze albuminose.* — 3° *Se le sostanze albuminose in parte possono trasformarsi in grasso, non è certo la lecitina la sostanza di passaggio fra quelle e questo, giacchè la quantità di lecitina oscilla nei limiti normali, tanto negli organi con semplice rigonfiamento torbido, quanto in quelli con avanzatissima degenerazione adiposa.*

Sento il dovere di ringraziare vivamente e pubblicamente il chiarissimo prof. *E. Salkowski* per avermi, con i suoi sapienti consigli, guidato nell'eseguire queste mie ricerche.

Berlino, luglio 1902.

Istituto di Clinica Chirurgica della R. Università di Cagliari.

CONTRIBUTO ALLE LESIONI PRODOTTE DAL FUNGO RAGGIATO

PER IL

PROF. VITTORIO REMEDI.

In un lavoro dello stesso titolo pubblicato nel fascicolo II del Giornale *Lo Sperimentale* (anno 1902), il Prof. *Colzi* riferì lo studio completo ed accurato di un caso di lesione glandulare linfatica primitiva, a forma neoplastica, dovuta al fungo raggiato.

Il fatto era interessante dal lato clinico ed anatomico, e per l'autore ebbe il gran merito di essere stato anche il primo a richiamare l'attenzione sopra una forma di actinomicosi primitiva di una glandula linfatica, la quale, come giustamente il *Colzi* conclude « per andamento clinico, per caratteri obiettivi « e strutturali, macroscopici e microscopici, segnerebbe quasi « un passaggio tra processi flogistici cronici e veri neoplasmi. »

Fino ad ora, dalle numerose pubblicazioni sull'argomento dell'actinomicosi che datano fino dalla seconda metà dello scorso secolo, si era formata la convinzione che nell'uomo la forma iperplastica od a tumore fosse assai rara, mentre era assai comune negli animali; e che questa affezione decorresse invece nelle parti molli in forma di flogosi cronica, con tendenza al rammollimento ed alla fusione purulenta. Avendo avuto anche io l'occasione di osservare due casi a decorso iperplastico, mi sono deciso a riferirne brevemente, allo scopo di portare un modesto contributo a questa forma di lesioni prodotta dal fungo raggiato, illustrata per il primo, come sopra ho detto dal Prof. *Colzi*.

Il primo dei due casi riguarda una localizzazione dell'actinomicosi nella tonsilla sinistra, e fu osservato e curato nell'ottobre 1901, mentre mi trovavo in vacanze vicino a Siena.

Provvedi Antonio, di anni 55, cantiniere, di Brolio.

Nulla di notevole nella anamnesi remota, fu operato da me 4 anni fa per ernia inguinale obliqua esterna destra, di cui non presenta tracce di recidiva. Nessuna infezione venerea o sifilitica, ha solo avuto l'abitudine di fumare molto, sia a sigaro che a pipa. Dall'epoca della operazione d'ernia tale vizio fu ridotto notevolmente, aveva però l'abitudine quando lavorava in cantina di tenere in bocca dei fuscellini di paglia o di fieno, che spesso masticava.

L'affezione datava da 3 mesi circa, e si era iniziata con dolori alla deglutizione, ed aumento di volume della tonsilla sinistra. Ha cessato immediatamente di fumare, e non ha fatto che cure locali, impacchi umidi all'esterno, internamente pennellature con nitrato di argento, gargarismi con clorato di potassa ecc. Per altro l'aumento di volume della tonsilla è andato progredendo, e di pari passo con questo la difficoltà a deglutire, tantochè presentemente è costretto a dieta liquida. Da circa venti giorni ha, durante la notte, accessi di dispnea. È stato veduto quindici giorni prima da uno specialista di Otorinolaringoiatria che diagnosticò un sarcoma inoperabile. Un chirurgo venti giorni prima aveva proposto la estirpazione del tumore.

Individuo di costituzione robusta, nessuna tumefazione delle glandule del collo, lo stesso reperto negativo si aveva nelle regioni sottoclavicolari, nell'ascella, nelle ghiandole sopraepitrocleari, nell'inguine. Integro l'apparato respiratorio, nessun fatto che facesse sospettare di affezione delle ghiandole peribronchiali. All'esame della cavità buccofaringea si notava la tonsilla destra di volume normale, la sinistra invece del volume di un grosso uovo di pollo, al quale per la sua forma regolare si poteva giustamente paragonare, era rivestita da muccosa congestionata con delle strie di catarro, che si distaccava con una certa difficoltà. Detta tumefazione di consistenza dura, uniforme, senza presentare alcun punto rammollito, riempiva completamente la metà corrispondente dell'istmo e della faringe, e giungeva in basso con il suo polo inferiore vicino alla apertura della glottide, tantochè a stento si raggiungeva con l'apice del dito indice, e spingeva in avanti l'ugola e la parte corrispondente del palato molle, sorpassando di $^1/_2$ centimetro forse la linea mediana. Comprimendo il tumore fra le dita poste nel cavo buccale, e quelle dell'altra mano poste dietro l'angolo della mascella, si avvertiva che il tumore era ancora leggermente mobile, aveva consistenza dura ed era dolente alla pressione, anzi il dolore aumentava coll'aumentare di questa. Il malato aveva i denti completi ed integri.

La diagnosi presentava una certa difficoltà: l'essere la tonsilla destra perfettamente normale faceva escludere l'ipertrofia semplice, e rimanere incerti fra un linfosarcoma, ed una forma flogistica cronica per la quale sfuggiva la causa, ma deponevano però in favore di questa il modo d'insorgere ed il dolore che si esacerbava alla pressione. Sotto questo dubbio consigliai al paziente una cura con ioduro di potassio (gr. 3 per giorno) e localmente pennellature di tintura di iodio mista a glicerina, e delle inalazioni alcaline per facilitare il distacco del mucco. Invitai il malato a tornare dopo 8 giorni.

Ritornò a farsi vedere puntualmente il giorno 22 ottobre (la prima visita venne fatta il giorno 15). Il paziente confessava di sentirsi meglio, da tre giorni non aveva più avuto nella notte alcun disturbo di respiro, la difficoltà alla deglutizione era notevolmente diminuita. Infatti all'esame obiettivo constatai come questo miglioramento nei fenomeni subiettivi del paziente fosse collegato ad una diminuzione di volume della tonsilla, tanto nel diametro longitudinale quanto nel trasversale. La muccosa che la rivestiva era anche meno congestionata, non presentava quasi più tracce di mucco. In un punto però della sua superficie interna, tra il velo del palato e la lingua, la muccosa presentava una chiazza violacea rotondeggiante, della grandezza forse di una lenticchia, ed era in questo punto leggermente sollevata. Facendo tenere abbassata la lingua, incisi il sollevamento ed ottenni la fuoriuscita di poche goccie di liquido sierosanguinolento misto a granuli giallastri. Raschiai la cavità con un piccolo cucchiaio, e ne estrassi una poltiglia rosso-scura in mezzo alla quale spiccavano qua e là dei granuli grigiastri. Conservai detta poltiglia in un vetrino da orologio per gli opportuni esami. Toccai la cavità residua nella tonsilla con un piccolo batuffolo bagnato in acido fenico puro, e consigliai un gargarismo di acido fenico al $^1/_2$ per $^0/_0$, invitando il malato a continuare ancora la cura di ioduro nella dose prescritta.

Rividi il paziente dopo dieci giorni, erano scomparsi tutti i disturbi, la tonsilla era ridotta di $^2/_3$ del suo volume primitivo, e pure essendo più voluminosa della destra e di consistenza più dura era perfettamente indolente alla pressione. Consigliai il malato a continuare la cura per altri dieci giorni. Seppi, tornato a Cagliari, che era completamente guarito. Lo rividi nell'agosto 1902 e constatai che la tonsilla sinistra era divenuta più piccola della destra.

Come sopra ho fatto notare, avevo avuto la precauzione di raccogliere la poltiglia che avevo ottenuto con il raschiamento e nella quale, in mezzo al rosso cupo della massa, spiccavano distintamente dei granuli giallastri, i quali sottoposi alla osservazione microscopica. Non possedendo di reagenti che il liquido di *Ziehl*, ed il necessario per fare il metodo di *Gram*, dovei assai limitare le mie ricerche. La mia attenzione si portò esclusivamente su quei granuli giallastri, che spiccavano sul

fondo rosso cupo della poltiglia ottenuta con il raschiamento, e che con grossolana dilacerazione potei isolare. Essi avevano una forma tendente alla sferica, erano assai friabili, non lasciandosi allungare o allargare colla punta dell'ago, e dividendosi invece in frammenti più piccoli. Una leggiera pressione esercitata sul coprioggetti, trasformava il granulo sottoposto in un numero più o meno grande di ammassi rotondeggianti, i quali, esaminati coll'obiettivo ad immersione, si vedevano costituiti da un ammasso intricato di filamenti nella parte centrale, presentanti nell'insieme un aspetto granuloso; e da uno strato periferico di clave molto allungate, che accennavano ad una disposizione primitivamente raggiata, distrutta per lo schiacciamento.

Con il metodo del *Gram*, oltre una grande quantità di filamenti, si vedevano anche molte figure di bastoncini e cocchi. Ma esaminando attentamente questi ultimi coll'obiettivo ad immersione, si vedeva che i cocchi presentavano una grande varietà nella loro dimensione e forma, come pure nei loro contorni non sempre regolari e nella intensità di colorazione; non potevano quindi per questo motivo ritenersi per piogeni comuni Anche dei bastoncini ve ne erano di tutte le lunghezze e dimensioni, da filiformi a cocciformi, da esilissimi ad abbastanza spessi, da intensamente colorati ad irregolarmente colorati. Dei filamenti più lunghi alcuni erano colorati intensamente ed avevano così una apparenza omogenea, altri invece erano come frammentati in bastoncini, e presentavano granuli cocciformi disposti ad intervalli irregolari. In preparati fatti, invece che collo strisciamento del granulo sul vetrino coprioggetto, collo schiacciamento di uno dei granuli giallastri tra due vetrini coprioggetto, che separavo poi con rapido movimento, trovai, dopo colorazione col *Gram*, una massa di filamenti intrecciati fra loro, suddivisi in varie ramificazioni, che alla periferia, dove minore era l'intreccio, assumevano una disposizione quasi raggiata. Vi si notavano pure bastoncelli, e forme rotondeggianti simili a quelle suddescritte, le quali in parte si trovavano dentro le maglie formate dai filamenti intrecciati, in parte alla periferia. Vere formazioni di clave non ho trovato col metodo di *Gram*: solo qualcuno dei filamenti periferici presentava alla estremità un leggero inspessimento. Con la colorazione di *Ziehl*, secondo il metodo per la ricerca dei bacilli della tubercolosi, le masse filamentose, come pure le altre forme, non si coloravano: ossia per essere più esatto il colore rosso che assumevano, non resisteva alla decolorazione cogli acidi. Veniva quindi, per questo carattere, esclusa la tubercolosi, esclusione che era convalidata dal fatto clinico, di non essersi verificati focolai di rammollimento, ad eccezione di quello superficiale dal quale raccolsi il materiale che mi servì per la diagnosi esatta della affezione, nel quale non vi erano neppure tracce di detriti caseosi.

La disposizione invece intricata dei filamenti nella parte centrale, la disposizione a raggera dei filamenti periferici, la presenza di forme

bastonciniformi e a cocchi, il modo di comportarsi alla colorazione col metodo di *Gram*, la presenza di clave nei preparati osservati a fresco, mi sembrava rendessero quasi completo l'aspetto microscopico della actinomicosi, sebbene mancassero nei preparati colorati forme clavate tipiche.

Anche il resultato della cura iodica venne in appoggio di questa diagnosi.

Dalle osservazioni ed esperimenti di *Prutz* (1) si sa che l'ioduro di potassio non diminuisce negli animali l'attività vitale dell'actinomices, e che quindi non deve ritenersi come uno specifico nello stretto senso della parola. Nell'uomo la neoformazione infiammatoria prodotta dall'actinomices, può coll'ioduro di potassio essere influenzata in modo da aversi un riassorbimento del prodotto flogistico, per cui si ha una più rapida fusione dei focolai contenenti il fungo raggiato, e viene così anche aumentata la tendenza già esistente ad aprirsi all'esterno.

Questo fatto, che *Prutz* pone fra le conclusioni del suo lavoro, si è pure verificato nel caso da me descritto; infatti, mentre avanti non si aveva in nessun punto della massa del tumore alcun segno di rammollimento, dopo 8 giorni di cura coll'ioduro di potassio sorpresi alla superficie interna della tonsilla un focolaio già prossimo ad aprirsi, nè si poteva escludere che altri se ne fossero aperti.

In che modo in questo caso siasi verificata l'infezione è facile a comprendersi, basta richiamare alla mente dalla anamnesi l'abitudine del malato a tenere in bocca e masticare dei fuscellini di paglia e di fieno, per spiegare che in questo caso, con tutta probabilità, si è avuta una infezione diretta della tonsilla, e l'actinomices si è sviluppato nel punto d'ingresso. Che questo sia possibile lo dimostrano le osservazioni di *Ruge* (2), il quale esaminando le tonsille di differenti malati, ha trovato, su 25 casi, 4 volte entro le cripte il fungo raggiato con tutte le particolarità caratteristiche che lo distinguono. Notevole era che in questi quattro casi nessuna alterazione esisteva nel tessuto della tonsilla che circondava il fungo, per cui ne concluse che questo poteva rimanere per un certo tempo annidato entro le cripte delle tonsille senza manifestare alcuna attività patogena.

Ignoro se questo da me osservato sia il primo caso di localizzazione a forma neoplasica dell'actinomices nella tonsilla, occorrendomi per stabilire questo, aver consultato tutta la estesa letteratura; per lo meno posso affermare basandomi su

(1) Prutz, *Die Behandlung der Aktinomykose mit Iodkalium. Experimentelle und Klinische Untersuchungen von Dr. W. Prutz.* (Mittheilungen aus den Grenzgebieten der Medizin und Chirurgie, Vierter Band, Erstes Hft.).

(2) H. Ruge, Verein fur innere Med. in Berlin. Sitzung am 10 Mai 1896.

quella che ho potuto esaminare, che la localizzazione a forma neoplasica nella tonsilla è assai rara.

Il secondo caso presenta pure a mio vedere un certo interesse.

Casu Stefano, di Raffaele, di Maracalagonis (Provincia di Cagliari), di anni 35, contadino. Entra in Clinica il giorno 24 febbraio 1902.

Non presenta alcun antecedente ereditario o personale degno di essere notato, se si eccettua che ha avuto frequentemente accessi di febbre malarica. Il principio della sua affezione risale al gennaio 1900. Avvertì a quest'epoca una sensazione dolorosa nella faringe al momento della deglutizione, che andò progressivamente accentuandosi fino a disturbare completamente la deglutizione, ed alterare la voce. I dolori erano talvolta più attenuati, sparivano anche completamente, tantochè per essere divenuta la deglutizione quasi normale, ha creduto spesso di essere guarito, ma a queste pause hanno seguito sempre, senza alcuna causa occasionale, nuove crisi dolorose. Circa sette settimane dopo, si accorse di una certa difficoltà nei movimenti di flessione e di rotazione della testa, ed al tempo stesso notò un indurámento bilaterale dei muscoli della nuca. Si attenuarono allora i dolori che avvertiva al momento della deglutizione, mentre si estendeva in basso tale induramento nella parte posteriore del collo e divenivano sempre più difficili i movimenti della testa. Tutto questo senza febbre, e senza dolori alla nuca, la deglutizione si compieva di nuovo in modo normale. Nell'ottobre l'induramento sopranotato aveva invaso tutta la parte posteriore del collo, dall'inserzioni muscolari alla linea occipitale superiore fino alla base del collo, estendendosi in avanti fino al margine anteriore dello sternocleidomastoideo. La testa era divenuta intanto completamente fissa ed immobile, ed il collo, uniformemente aumentato di volume nella parte posteriore, aveva assunto una forma rotondeggiante. Nessuna alterazione si notava nella pelle. Ritenendosi che si trattasse di una forma reumatica fece largo uso di salicilati e preparati di chinino senza alcun resultato. Nel febbraio 1901 fece pure una cura coll'ioduro di potassio che durò un mese. Dice il paziente che come effetto di questa cura la tumefazione si ridusse di volume, ma tale riduzione si manifestò a preferenza sulla parte sinistra, e fu consecutiva, secondo la sua opinione, ad un ascesso che si formò in corrispondenza della metà superiore dello sternocleidomastoideo di sinistra e che si aprì spontaneamente. Tale ascesso cominciò a formarsi dopo una quindicina di giorni dacchè aveva iniziato la cura coll'ioduro; senza febbre, e solo preceduta da un certo senso di dolorabilità alla pressione, comparve in corrispondenza del punto sopraindicato, una tumefazione maggiore. La pelle si arrossò, la tumefazione divenne dolente, e si aprì 10 giorni dopo la sua comparsa dando esito ad un liquido denso, che il malato credè

essere sangue coagulato a causa del suo colore rosso-nerastro. L'apertura fattasi si chiuse completamente dopo un mese circa dalla sua apertura; però non ostante che il collo fosse diminuito, e che tale diminuzione si fosse verificata in maggior grado a sinistra, rimase l'induramento e la fissità della testa. Nell'agosto, senza alcuna causa apprezzabile, il collo tornò di nuovo ad aumentare di volume, l'induramento si estese ancora in basso raggiungendo lentamente il margine superiore delle scapole, ed il paziente cominciò ad avvertire una certa difficoltà nel muovere le braccia, dolori durante la notte lungo gli arti superiori, e di nuovo una certa difficoltà alla deglutizione. Si arrivò così al mese di ottobre: a quest'epoca fattosi visitare da un chirurgo, questi sospettando della possibile esistenza di un ascesso profondo, praticò lungo i margini posteriori degli sternocleidomastoidei due lunghe incisioni profonde. Non venne fuori che sangue a nappo in notevole quantità, tantochè per arrestare la emorragia si dovettero zaffare fortemente le due ferite. Queste non si chiusero in seguito che parzialmente, perchè vi s'innestò una infezione che produsse nelle ferite stesse un processo suppurativo che le cambiò in 2 seni fistolosi.

Intanto in basso l'induramento andava sempre più estendendosi, aumentava la difficoltà al movimento delle braccia, e forti dolori nevralgici comparvero nel gennaio: questi tormentando il malato, in specie durante la notte, lo decisero a venire in Clinica.

Esame obbiettivo. — La parte posteriore del collo era uniformemente tumefatta, e tale tumefazione veniva limitata in avanti dai margini anteriori dei due sternocleidomastoidei, cominciava in alto in corrispondenza delle linee curve occipitali superiori, a livello quindi delle inserzioni superiori dei trapezi e degli sternocleidomastoidei, discendeva in basso sulla faccia posteriore fino a livello della spina della scapola, e di lato fino in corrispondenza del margine superiore della clavicola. La pelle corrispondente aveva un colore roseo, che contrastava con il colore pallido di quella che si trovava anteriormente fra i due sternocleido; il limite però non era netto, ma in corrispondenza del margine anteriore dei due sternocleidomastoidei si aveva come una sfumatura che segnava il passaggio alla pelle sana.

Alla palpazione si notava che la pelle in tutta la estensione dell'arrossamento era leggermente inspessita, sebbene ancora mobile sulle parti profonde. La tumefazione sembrava invece incominciare al disotto della aponevrosi, non si sentivano più i limiti e le sporgenze dei muscoli sottostanti, ma si notava al loro posto una massa uniforme, immobile, come aderente alle ossa sottoposte, di una durezza lignea, la quale posteriormente si estendeva fino alla spina dell'omoplata, in avanti ed in basso terminava bruscamente al margine anteriore degli sternocleidomastoidei, ed in basso ed in avanti era aderente al margine superiore della clavicola e dello sterno.

Erano quindi come fusi in questa massa lignea tutti i muscoli della regione cervicale posteriore superficiali e profondi, ed i due sternocleidomastoidei. Anche l'infossamento, che normalmente trovasi in corrispondenza della regione sopraclavicolare era pure scomparso. L'uniformità di questa estesa tumefazione era solo interrotta a sinistra in corrispondenza del 3° superiore dello sternocleido, da un infossamento dovuto ad una cicatrice raggiata, della estensione di circa un centimetro, rivestita da pelle più pallida. Più vicino alla linea mediana e presso a poco allo stesso livello, vi era una cicatrice lineare infossata, ma arrossata, della estensione di 4 centimetri circa, la quale al suo estremo superiore era rivestita da una crosta che chiudeva un seno fistoloso rivestito di granulazioni violacee, dal quale fuoriusciva sierosità mista a sangue e pus. A destra pure alla stessa altezza si notava un secondo infossamento, contornato da pelle violacea, in fondo al quale si aveva un seno fistoloso che presentava lo stesso aspetto dell'altro. I due seni fistolosi esaminati collo specillo, si portavano ambedue in avanti verso l'angolo della mascella, approfondandosi dietro di questo, quasi fino a raggiungere la parete laterale della faringe. La pressione esercitata in qualunque punto della tumefazione non era dolorosa, nessun segno di edema sulla cute. Non si riusciva anteriormente a penetrare colle dita sotto agli sternocleidomastoidei a causa della loro durezza e rigidità, parimente non si riusciva ad avvertire nessuna tumefazione glandulare sia nelle regioni sopraioidee, sia lungo i margini anteriori degli sternocleidomastoidei. Non si rilevava nessuno spostamento del fascio nervevovascolare all'interno od in avanti. La testa era completamente fissata in posizione eretta, ogni suo movimento era abolito. La deglutizione era difficile, specialmente quella dei solidi, la muccosa buccale non presentava alterazioni, denti completamente sani. Tracce di faringite cronica, e tonsille leggermente aumentate di volume. Dolori spontanei, frequenti, specie nella notte, a forma di accessi nevralgici alle due braccia, lungo le diramazioni del plesso brachiale. Nessuna lesione degli organi toracici e addominali, nessuna alterazione nei componenti normali dell'orina.

L'esame del sangue dava i seguenti resultati:

Globuli rossi	4,152,000
» bianchi.....	19,040
Emoglobina	70

L'aumento dei globuli bianchi riguardava principalmente i polinucleari neutrofili.

Di fronte a questa tumefazione estesa, dura, indolente alla pressione che era fortemente aderente alle ossa (occipitale, vertebre cervicali, clavicola, scapola) quale era la diagnosi? Il suo modo di sviluppo, il decorso, la durata, la net-

tezza dei limiti in avanti in corrispondenza dei margini anteriori degli sternocleidomastoidei, i resultati dell'esame del sangue, facevano abbandonare l'ipotesi di un neoplasma. Era evidente che si trattava di una forma d'infiammazione cronica, ma si trattava di una forma di miosite interstiziale partita dai muscoli profondi della regione cervicale posteriore, e diffusasi lentamente ai muscoli superficiali, identica a quella descritta per altri gruppi muscolari da *P. Hackenbruch* (1) e *Bronislaw Kader* (2)? I caratteri principali descritti da questi autori sono: la durezza lignea dei muscoli, che sono come saldati tra loro ed alle ossa vicine, la sensibilità alla pressione, la mancanza di punti rammolliti o fluttuanti, l'inspessimento della pelle per cui non può sollevarsi in piega come normalmente, uno stato edematoso più o meno accentuato della medesima, e la mancanza di limiti netti per cui si ha come un passaggio graduale fra il muscolo affetto da miosite ed il muscolo sano.

Questi caratteri mancavano, come resulta dall'esame obiettivo nel caso da me osservato, per cui non poteva questo rientrare fra i casi di miosite fibrosa interstiziale raccolti e descritti dai sunnominati autori *P. Hackenbruch* e *Bronislaw Kader*.

La mancanza di tumefazioni glandulari, e di focolai, di rammollimento, l'aspetto presentato dai seni fistolosi, ed il non essere la pelle che li contornava, assottigliata e scollata dalle parti profonde, facevano escludere che si potesse trattare di tubercolosi. Tanto meno si poteva pensare ad una tubercolosi delle prime vertebre cervicali, al così detto *malum occipitale*, per la mancanza completa di dolorabilità alla pressione, e per la posizione perfettamente orizzontale tenuta dalla testa, che indicava che non si era verificata nessuna distruzione ossea: distruzione che sarebbe stata inevitabile,

---

(1) P. Hackenbruch, *Ueber interstitielle Myositis und deren Folgerzustand, die sogen. rheumatische Muskelschwiele.* (Beiträge zur klinischen Chirurgie, Bd. X, Erstes Hft.).

(2) Bronislaw Kader, *Klinische Beiträge zur Aetiologie und Pathologie der sog. primären Muskelentzündungen.* (Mittheilungen aus den Grenzgebieten der Medizin und Chirurgie, Zweiter Band, Fünfter Hft.).

data la durata della malattia, se si fosse trattato del *malum occipitale.*

Invece il modo con il quale si era manifestata l'affezione, il suo decorso, la consistenza lignea, la sua regolarità, l'essere limitata dai tessuti sani da un margine netto, ben sensibile alla palpazione, l'essersi formato in mezzo alla sua massa un ascesso, faceva inclinare per ammettere che si trattasse di uno di quei rari casi di flogosi cronica che si trovano nella letteratura chirurgica, sotto il nome di flemmone ligneo del collo descritti da *Reclus* (1), *Krause* (2), *M. M. Kusnetzoff* (3), *Prutz* (4), *Stockum* (5) *Muhsam* (6), *M. Marsoo* (7).

Solamente pur essendo uguali i caratteri clinici vi sarebbe una differenza nella sede anatomica, mai essendosi originato il flemmone ligneo nella regione cervicale posteriore del collo, e mai avendo raggiunto una estensione così notevole; ma su questi particolari ritornerò più tardi.

Rimaneva ora a stabilire di qual natura era l'affezione, o in altri termini quale era in questo caso l'agente patogeno. Certo che il dato anamnestico dell'essersi manifestato in mezzo alla massa lignea un focolaio di rammollimento, durante la cura dell'ioduro di potassio, faceva sospettare che si potesse trattare di una forma iperplastica determinata dal fungo raggiato; ma era anche da ritenersi, che in seguito alla infezione secondaria innestatasi in seguito alle incisioni fatte, riuscisse difficile la sua ricerca. Infatti l'esame del secreto che si poteva raccogliere dai due seni fistolosi, non dava che la presenza dei comuni cocchi piogeni, e di alcune forme bacillari che non si colorivano col metodo di *Gram.*

(1) Reclus, *Phlegmon ligneux du cou.* (Revue de Chirurgie, 1896, pag. 522; Semaine Médicale, 1896, pag. 220).

(2) Krause, *Ueber holzarte Entzündung des Bindegewebes.* (Centr. für Chirurgie, 1899, No. 17).

(3) Kusnetzoff, *Ueber die Holzphlegmonen des Halses.* (Archiv für Klinische Chirurgie, Bd. 58, Hft. 3).

(4) Prutz, *Die Behandlung der Aktinomykose mit Jodkalium.* (Mittheilungen aus den Grenzgebieten der Medicin und Chirurgie, Band. IV, Hft. I).

(5) Stockum, Treizième congrès français de Chirurgie.

(6) Muhsam, *Ueber Holzphlegmone.* (Deutsche medicinische Wochenschrift, 1901, No. 5).

(7) M. Marsoo, Société de médicine interne de Berlin, 5 Mars 1900.

Dirò subito, per non tornarvi sopra, che col metodo delle culture s'isolarono due varietà di stafilococchi, l'aureo e l'albo, e che la forma bacillare suddetta era costituita dal piocianeo.

Dopo aver fatto nei soliti modi, e previa la rasatura dei capelli nella regione occipitale, la pulizia della pelle, più completamente che fosse possibile, per tutta l'estensione dell'indurimento, feci applicare un impacco asettico, con soluzione fisiologica sterile di cloruro di sodio ed iniziai una cura energica coll'ioduro di potassio, nella dose giornaliera di 3 grammi, ed ogni 8 giorni, praticai nella massa sacro-lombare, una iniezione di un centimetro cubo di una soluzione iodio-iodurata (formula *Durante*).

Il giorno 16 marzo comparve nella regione sopraclavicolare destra e presso a poco in vicinanza della inserzione clavicolare dello sterno-cleidomastoideo, una placca di un rosso cupo sulla pelle. La medesima era in questo punto leggermente edematosa, e dolente alla pressione.

Praticai un'incisione longitudinale sulla pelle dell'estensione di circa 6 centimetri, che sorpassava tanto in alto che in basso i limiti di codesta chiazza rossa; la pelle era dura ed inspessita, inspessito pure il tessuto sottocutaneo che dava abbondante emorragia a nappo. Al disotto del tessuto sottocutaneo ancora riconoscibile, (quantunque inspessito), per la presenza di tessuto adiposo, incontrai una massa di tessuto denso, compatto, come lardaceo, ampiamente sanguinante, che stridéva sotto il coltello. Facendomi strada lentamente verso le parti più profonde trovai una piccola cavità del volume di una nocciuola, contenente una massa puriforme densa per abbondanti granuli giallastri, che esportai in massima parte col cucchiaio, ponendola in un tubo sterilizzato. Escisi quindi un pezzetto di tessuto della parete esterna della cavità per esaminarlo, e nell'escidere il piccolo pezzetto, incontrai una glandula linfatica, riconoscibile al suo colore di un rosso cupo ed alla forma rotondeggiante, che si trovava come innicchiata in mezzo a questo tessuto fibroso, ricco di vasi sanguigni. Riuscii a toglierla intera, esportando colle forbici la massa del tessuto che la circondava, essendone impossibile l'isolamento con strumenti ottusi.

Incisi quindi i due seni fistolosi, aprendo tutta la vecchia cicatrice ed anche qui trovai sotto il tessuto sottocutaneo, la stessa massa dura, sanguinante abbondantemente. Raschiai il fondo e le pareti dei seni con il cucchiaio, con il quale mi riuscì asportare solamente frustoli di granulazioni giallo-rossastre, non avendo presa il cucchiaio nè sulle pareti nè sul fondo. I due seni fistolosi si dirigevano dietro l'angolo della mascella verso la parete corrispondente della faringe, senza però arrivare fino a questa. Non si avvertiva nessuna superficie di osso scoperto. Collo zaffamento arrestai la emorragia a nappo, quindi trattai le tre incisioni con acido fenico puro, poi coll'alcool assoluto, e irrigai

dopo con soluzione sterile fisiologica di cloruro di sodio, nel modo appunto che propone il *Bruns* per le ferite settiche [1].

Applicai quindi una medicatura asettica. Le condizioni del malato migliorarono in parte, scomparve quasi del tutto la difficoltà alla deglutizione, diminuì l'intensità degli accessi nevralgici lungo le diramazioni del plesso brachiale, diminuì anche la tumefazione specialmente a sinistra, ma rimase sempre la durezza lignea e la fissità della testa.

Il decorso fu completamente afebbrile. La cura coll'ioduro venne sospesa dopo 35 giorni per intolleranza da parte dello stomaco, si continuarono invece le iniezioni iodio-iodurate.

Il 26 aprile la incisione di sinistra e quella praticata a destra nella regione sopraclavicolare erano completamente guarite, non si era chiusa ancora quella più alta. Allargai allora di nuovo la ferita e praticai un secondo raschiamento asportando i soliti frustoli di fungosità rosso-giallastre.

Trattai nuovamente la ferita nel modo solito.

Il 10 maggio il paziente volle lasciare la Clinica, la ferita era quasi completamente cicatrizzata, dava uscita soltanto a secrezione siero-sanguinolenta in scarsa quantità. Erano divenute più rare di frequenza le crisi dolorose, ma permaneva sempre la rigidità, e la durezza la quale si era ridotta di spessore, ma non di estensione.

Tornò a farsi rivedere il 25 maggio, la ferita era completamente chiusa. Consigliai di nuovo la cura dell'ioduro.

Da notizie avute dal Medico (decembre 1902) di Maracalagonis ho saputo che il paziente trovasi presentemente in gravi condizioni per una affezione catarrale del polmone principiata nell'ottobre che è andata via via aggravandosi. Ha febbre continua con esacerbazioni vespertine, deperimento generale. Molto probabilmente si tratta di una diffusione del processo morboso agli organi toracici. Le condizioni del collo sono invece migliorate, perchè si è ancora ridotto di volume, pur rimanendo sempre duro, e la testa perfettamente fissa. Le incisioni fatte sono completamente cicatrizzate.

La straordinaria rarità del caso mi ha spinto a studiarlo il più esattamente che potevo, praticando quattro serie di ricerche, cioè:

Esame microscopico del pus; Esame culturale del medesimo; Esame microscopico dei frammenti di tessuto e della ghiandola estirpata; Esperimenti sugli animali.

---

[1] V. Bruns, *Ueber die Anwendung reiner Karbolsaüre bei septischen Wunden und Eiterungsprocessen.* (Bericht über die Behandlungen der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, 1901).

Esame microscopico del pus. — Ho già sopra riferito un succinto esame del pus raccolto dai seni fistolosi non appena il malato entrò in Clinica. L'esame che ora descrivo riguarda i detriti ottenuti con il raschiamento ed esclusivamente i granuli. Di questi granuli però nel detrito raccolto dalla ragione sopraclavicolare, macroscopicamente se ne notavano due varietà, presso a poco eguali di quantità, una costituita da granuli più grossi di colorito giallo zolfo, l'altra da granuli più piccoli di colorito grigiastro: invece nella poltiglia ottenuta con il raschiamento dei seni fistolosi sembravano predominare i granuli giallastri. Una differenza si notava pure nella consistenza e nella resistenza, i granuli giallastri erano più resistenti allo schiacciamento fra due vetrini, meno resistenti erano i granuli grigiastri. I primi esaminati a forte ingrandimento, lasciavano riconoscere delle forme a guisa di clave fortemente refrangenti, mentre la parte interna appariva formata da un fitto reticolato di filamenti sottili, non sempre bene evidenti. Nei granuli presi dalla poltiglia estratta col raschiamento dai seni fistolosi, bisognava avere la precauzione di lavarli per liberarli dalle masse purulenti che involgevano alla periferia il granulo, e ne mascheravano altrimenti sotto il microscopio la costituzione. In questi granuli si mostravano in mezzo al reticolo filamentoso centrale molte forme simili a cocchi.

I granuli grigi i quali come sopra ho detto sembravano più molli, apparivano microscopicamente privi di clave, ed erano costituiti solo da un intreccio di filamenti sottili che sembravano dividersi in modo dicotomico.

La colorazione dei preparati mi riuscì assai bene col violetto di genziana e successiva decolorazione secondo il metodo di *Gram* o di *Weigert*. Si colorivano invece difficilmente col bleu di metilene alcalino di *Löffler*, e si colorivano assai bene colla fucsina carbolica, mentre si decoloravano completamente col metodo di *Ziehl-Neelsen*. Buoni resultati di colorazione ebbi pure colla doppia colorazione col violetto di genziana e picrocarminio di *Weigert* (metodo di *Bostrom*), coll'orceina in soluzione concentrata in acqua acidulata con acido acetico (metodo d'*Israel*), colla soluzione di orseille e violetto di genziana (metodo di *Weigert*).

Notevole era che facendo dei preparati col detrito tolto dai due seni fistolosi si colorivano col bleu di metilene di *Löffler* delle forme cocciformi, costituite evidentemente da stafilococchi, e delle forme bacillari le quali si decoloravano col metodo di *Gram*, forme che non si trovavano nei preparati fatti con la poltiglia ottenuta dal raschiamento dell'ascesso aperto con il coltello.

Senza stare a descrivere esattamente i preparati colorati dirò solo che detti preparati esaminati anche dal Prof. *Galeotti*, vennero ritenuti costituiti da vere forme di actinomices.

Culture. – Ho già precedentemente accennato come dalle prime culture fatte con il secreto che fuoriusciva dai seni fistolosi non ottenessi che lo stafilococco aureo, ed albo, ed il piocianeo. Le nuove culture furono fatte con il prodotto del raschiamento dei due seni fistolosi e con il contenuto del focolaio di rammollimento formatosi nella regione sopraclavicolare. Come mezzi di cultura adoprai la gelatina, l'agar glicerinato, il brodo con zucchero di uva all'1 %, lo stesso brodo con l'aggiunta nei tubi di 10 goccie di una soluzione di solfato di sodio all'1 % secondo che consiglia il *Silberschmidt.* (1)

Le culture fatte con il secreto fresco dei due seni fistolosi tanto aerobiche che anaerobiche dettero sviluppo a forme bacillari *(B. pyocianeus)* e a stafilococchi (aureo e albo). Potei ottenere l'isolamento di queste tre varietà di microorganismi in agar glicerinato entro capsule *Petri*, e constatai anche da inoculazioni sui conigli che essi erano assai virulenti. Lo sviluppo rapido di questi germi impediva probabilmente lo sviluppo del fungo raggiato nei mezzi di cultura così innestati.

In una seconda serie di culture io utilizzai il materiale raccolto sia dal raschiamento dei seni fistolosi che dal focolaio sopraclavicolare. In questa seconda serie, prima dell' innesto, io passai cinque o sei volte i granuli in brodo semplice sterile, contenuto in capsule di porcellana pure sterilizzate, agitandoli con una spatolina di platino. Separai e distinsi i tubi che avevo infettato con i granuli di color giallo zolfo da quelli nei quali l'innesto era stato fatto con i granuli grigiastri. I resultati ottenuti furono i seguenti.

Nella gelatina le culture furono fatte per infissione e aerobiche Con i granuli grigiastri tolti dal focolaio chiuso, in due tubi su cinque, osservai uno sviluppo lentissimo in forma di una pellicola sottile ondulata alla superficie: lungo l' infissione, delle piccole diramazioni lineari ondulate, che sparivano nella profondità, senza però alcun segno di fluidificazione della gelatina.

Nell' agar e nel brodo feci culture aerobiche ed anaerobiche. Queste ultime le feci, quelle in brodo in tubi di *Grouber*, quelle in agar assottigliando i tubi comuni verso il terzo superiore, e togliendo poi l'aria il più che fosse possibile con l'apparecchio del *Potain*, al quale nel posto dell'ago cannula avevo innestato un tubo di vetro che traversava un tappo di gomma che si adattava e chiudeva esattamente i tubi delle culture, e dividendo dopo il tubo nella parte strozzata e saldandolo contemporaneamente alla lampada.

Nell'agar innestato alla superficie io non osservai nessun accrescimento nelle culture aerobiche: nelle anaerobiche invece diverso alquanto fu il modo di comportarsi dei granuli giallastri e grigiastri.

(1) Silberschmidt, *Ueber Aktinomikose.* (Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten, Bd. 37, Hft. 3).

Nei primi osservai solo un aumento di volume dei granuli, aumento che si rese solo visibile al principio della terza settimana, e che si verificò nei granuli che si trovavano in fondo al tubo a contatto dell' acqua di condensazione, essi conservavano però aumentando di volume il colorito giallo.

Con i granuli grigiastri invece si svilupparono tanto alla superficie come entro la solcatura fatta coll' ansa di platino, dal 4° al 6° giorno delle colonie puntiformi biancastre, le quali aderivano anche saldamente al substrato nutritivo. Lo sviluppo di queste colonie puntiformi fu più rapido con i granuli provenienti dai seni fistolosi. Facendo dei preparati con queste culture e colorandoli con il metodo di *Gram* si notavano delle forme bacillari per lo più leggermente incurvate, alcune delle quali apparivano come granulose.

Dette colonie andarono lentamente crescendo in superficie, ed al tempo stesso assumevano un colorito leggermente giallastro, e si notò una certa tendenza ad invadere profondamente l' agar, giacchè con la lente d'ingrandimento si vedevano nettamente dei filamenti tortuosi che partendo dalla superficie penetravano profondamente nell'agar. Nelle culture più vecchie al microscopio e con il metodo di *Gram*, si notavano filamenti di lunghezza variabile, alcuni dei quali diramati, altri leggermente clavati alla loro estremità, oppure che si assottigliavano alla estremità opposta alla clavata in modo da assomigliare ad una virgola, altri poi presentavano qua e là piccoli strozzamenti.

Nell' agar fluidificato, innestato e quindi solidificato (però solo nei tubi innestati con i granuli grigiastri) si formarono lentamente colonie piccole ben limitate senza che si vedesse alcuna diffusione entro il substrato nutritivo.

Le culture in brodo con i granuli grigiastri dettero tutte esito positivo, su sei invece inoculate con i granuli giallastri, tre aerobiche e tre anaerobiche solo in 2 anaerobiche si ebbe esito positivo. Tanto nelle aerobiche che nelle anaerobiche lo sviluppo si verificò in fond o al tubo e frequentemente lungo le pareti, mai alla superficie, ed il liquido rimase sempre chiaro. Nel brodo zuccherato le culture aerobiche presentarono dei punticini bianco-grigiastri lungo le pareti, appena visibili e con scarsissimo sedimento in fondo. Nel brodo glucosato coll' aggiunta di solfato di soda, il deposito fu molto più abbondante ed era formato da granuli muccosi irregolari. Assai più rapido fu lo sviluppo nelle culture anaerobiche in brodo zuccherato e coll' aggiunta del solfato di soda. Dopo 2 o 3 giorni al massimo, si vedevano lungo le pareti piccole e distinte colonie, e si formava in fondo una specie di grumo grigiastro che andava aumentando di volume, assumendo, se lasciato a riposo completo, quasi una forma piramidale.

Esaminata una di queste culture al microscopio in goccia pendente e a forte ingrandimento, si vedevano numerose forme di filamenti non

molto lunghi, disuguali, sempre però assai sottili, alcuni leggermente incurvati; e framezzo a questi, elementi più corti di diversa lunghezza e spessore, dei quali alcuni, in mezzo al liquido, sembrava che avessero un movimento oscillatorio senza però mutare di posto.

Esaminata la cultura disseccata su vetrino coprioggetto e colorita con i vari metodi, si notava una notevole quantità di filamenti lunghi, alcuni più o meno ramificati senza ordine regolare. Accanto a questi si notavano forme più corte, talvolta leggermente arcuate, con estremità ben limitate ed alcune distintamente inspessite.

La colorazione avveniva in modo completo in molti, mentre in altri si aveva solo a tratti, specialmente col metodo di *Gram*, e tali preparati davano allora l'impressione come se fossero costituiti da moltissimi granuli.

Esame microscopico dei frammenti di tessuto e della ghiandola estirpata — Il frammento di tessuto e la ghiandola furono fissati con sublimato e trattati poi nel solito modo per l'induramento e l'inclusione.

Del frammento di tessuto, ne furono fatti due frammenti più piccoli, uno costituito dal tessuto che formava quasi la parete del focolaio ascessuale, l'altro dal tessuto più periferico.

L'esame microscopico della parete dell'ascesso (colorando le sezioni con i vari metodi più usati) dimostrò ch'essa era costituita da un tessuto di granulazione ricco di vasi neoformati e sottili, al disotto di questo si trovava tessuto fibroso. Accanto ai vasi sanguigni si trovavano pure qua e là focolai emorragici, e nello strato superficiale di granulazione si poteva vedere un gran numero di punti necrotici.

In vicinanza del tessuto fibroso che formava quasi il sostegno di questo tessuto di granulazione si notavano cellule epitelioidi e qualche cellula gigante.

Esaminando le sezioni appartenenti alla parte più periferica del focolaio, si notava che questa era costituita in massima parte da tessuto fibroso, in mezzo al quale si notavano dei fascetti muscolari i quali erano intimamente aderenti a questo. I nuclei del sarcolemma erano aumentati notevolmente, e nell'interno dei fasci muscolari, sparpagliati qua e là nella massa del tessuto fibroso, si notavano tutte quelle alterazioni descritte nei differenti stati patologici dei muscoli; si aveva inoltre qua e là infiltrazione leucocitaria, che in alcuni punti formava come degli accumuli di cellule rotonde. Anche in mezzo a questo tessuto, in massima parte fibroso, si notavano qua e là vasi sanguigni a pareti sottili, evidentemente quindi di neoformazione. La ricerca del parassita l'ho fatta colorando le sezioni col metodo di *Weigert*, di *Gram*, di *Boström*, d'*Israel*. Già nei preparati colorati coll'emallume ed eosina avevo notato, a piccolo ingrandimento, delle forme colorate che a prima vista sarebbero sembrate masse jaline, ma osservate attentamente si vedeva che la loro periferia era come dentellata finamente. Nei preparati colorati con emal-

lume ed eosina si notava alla periferia di queste masse come un alone sottile, leggermente colorato in rosso, nel quale sporgevano appunto quei filamenti che davano alla massa l'aspetto dentellato. Con forte ingrandimento constatai che queste masse erano costituite da una gran quantità di filamenti intensamente colorati (molto bene riuscì il violetto di genziana e il metil violetto) ramificati ed intrecciati fra loro nella parte centrale in modo da formare una specie di gomitolo, dalla cui periferia partivano a guisa di raggi dei filamenti ora diritti ora flessuosi, alcuni dei quali sparivano nella zona incolora, quando esisteva, mentre altri l'attraversavano, o quando non esisteva, si trovavano a contatto con elementi cellulari rotondi o con tessuto fibroso.

In qualcheduno di questi filamenti si notavano degli inspessimenti colorati in bleu scuro, e alcuni di quelli che terminavano a contatto di uno spesso accumulo di leucociti, presentavano un piccolo rigonfiamento terminale claviforme che era intensamente colorato dal violetto di genziana. In nessuna sezione ho veduto filamenti penetrare nell'interno dei vasi, sebbene talvolta pochi leucociti separassero l'estremità terminale del filamento dal lume di un vaso, la cui parete era costituita da una sottilissima lista di connettivo che serviva di sostegno alle cellule endoteliali.

Osservando attentamente, gli accumuli di cellule rotonde che si trovavano alla periferia delle forme raggiate partenti dai gomitoli suddescritti, nei preparati colorati col violetto di metile, si notavano alcuni grossi leucociti ricchi di protoplasma (veri fagociti di *Metchnikoff*) che contenevano dei piccoli bastoncini formati come da tanti granuli, contornati da una specie di aureola più chiara dovuta al fatto che il protoplasma cellulare in questo punto sembrava colorirsi meno intensamente in rosso col picrocarminio.

Colla colorazione specifica dei bacilli della tubercolosi le masse filamentose non si tingevano affatto.

Per quello che riguarda la glandula linfatica, questa macroscopicamente presentava la capsula inspessita; al taglio aveva un aspetto uniforme rossastro, per cui non si differenziava più la sostanza midollare dalla corticale. Nessun focolaio rammollito o purulento nel suo parenchima. All'esame microscopico si notava un inspessimento fibroso della capsula, delle trabecole, e del reticolo, mentre corrispondentemente erano diminuiti di volume i cordoni ed i follicoli linfatici. La ricerca del parassita, per quanto fatta in numerose sezioni e con vari metodi, riuscì perfettamente negativa.

Esperimenti sugli animali.

Come animali da esperimento ho potuto adoperare soltanto il coniglio e la cavia.

Prima serie. — Il materiale ottenuto dai seni fistolosi venne inocu-

lato in due conigli intraperitonealmente. Morirono entrambi dal 4° al 6° giorno per peritonite fibrino-purulenta da piogeni, come mostrò l'esame microscopico del liquido intraperitoneale. Debbo qui ricordare come già un primitivo esperimento aveva rivelato la virulenza delle culture di stafilococco e del piocianeo.

Seconda serie. — Inoculazione fatta con i granuli colore giallo-zolfo, previa lavanda ripetuta passandoli in brodo sterilizzato. Vennero inoculati due cavie e due conigli, (uno per ciascuna qualità) sottocute, facendo una piccola incisione sul dorso, scollando la cute in modo da fare una saccoccia ed introducendovi alcuni granuli e suturando quindi la piccola ferita. Non si osservò nessuno sviluppo.

Gli altri due vennero inoculati nel cavo peritoneale. Uccisi al 25° giorno si ebbe reperto negativo nel coniglio, la cavia presentava nel grande omento due piccoli focolai giallastri a contenuto fioccoso. Col metodo delle culture sopradescritto riottenni lo stesso miocroorganismo a filamenti cogli stessi caratteri microscopici.

Terza serie. — Inoculazione fatta con i granuli grigiastri trattati preventivamente nel modo solito. Alcuni di questi perchè più molli dei giallastri, vennero emulsionati il più finamente possibile, in pochi centimetri cubici di brodo sterilizzato, che iniettai colla siringa in due cavie entro il peritoneo.

Ottenni resultati positivi. Una delle cavie del peso di 375 grammi, alla quale fu inoculato il materiale proveniente dai seni fistolosi, morì dopo 24 giorni, e si trovò il peritoneo coperto da noduli giallastri piccoli, i quali erano però più grossi e più abbondanti sull'omento e sul mesenterio, e saldavano le anse intestinali fra loro e alle pareti addominali. Noduli simili pure esistevano sulla superficie del fegato e della milza. I noduli grossi presentavano nell'interno una poltiglia giallastra, dalla quale si ottenne di nuovo il solito microorganismo.

L'esame microscopico del contenuto dei noduli dette l'identico resultato.

L'altra cavia del peso di 340 grammi alla quale venne inoculato il materiale dell'ascesso, fu uccisa dopo 25 giorni, in essa constatai solo la presenza di qualche nodulo ancora piccolo nell'omento, nella zona che comprende la parte sinistra del fegato, il ventricolo, e la milza.

Ottenni con le prove culturali il solito microorganismo.

Due conigli vennero invece inoculati ponendo direttamente i granuli entro i muscoli profondi della regione laterale cervicale, mediante una incisione praticata sulla linea mediana. In ambedue si ebbero resultati positivi, già dopo 15 giorni si cominciò ad avvertire un induramento rotondeggiante nel punto inoculato che nel coniglio nel quale si era adoperato il materiale tolto dai seni fistolosi, andò aumentando rapidamente fino a raggiungere al termine di un mese il volume di una nocciuola, mentre nell'altro nel quale si era adoperato il materiale dell'ascesso, il

tumore era più piccolo, del volume appena di un nocciolo di ciliegia. Nessuna aderenza aveva contratto questo colla pelle, era ancora leggermente mobile sulle parti più profonde, esso sembrava ancora incluso in parte nel muscolo insieme al quale si muoveva. L'altro più grosso invece era come saldato colle parti profonde. Essi però alla palpazione erano duri di consistenza e nettamente limitati dalle parti vicine.

Dopo un mese venne praticata l'estirpazione dei due noduli. Non trovai nel collo noduli secondarî. Gli animali vissero dopo la estirpazione ed uccisi più tardi (un mese e mezzo circa) non presentarono altri focolai.

I due tumoretti estirpati costituiti da tessuto fibroso denso e resistente alla periferia, presentavano nell'interno piccoli focolai puntiformi giallastri, il cui contenuto esaminato al microscopio dimostrava l'esistenza dello stesso microorganismo, con tutte le sue particolarità già notate, e che è inutile ripetere. Resultato positivo dettero le culture. Nelle sezioni di pezzetti fissati col sublimato si notavano focolai necrotici circondati da una parete formata da spesso tessuto connettivo, in mezzo al quale si notavano residui di fibre muscolari, accumuli di cellule rotonde e qualche piccolo cespuglio formato dall'intreccio dei soliti filamenti; non vidi forme veramente clavate, solamente notai che alcuni dei filamenti radiarî presentavano inspessimenti terminali che si colorivano intensamente col *Gram*. In preparati colorati antecedentemente col litiocarminio, oppure colorati dopo il *Gram* col picro-carminio di *Weigert* ed in alcuni coloriti coll'ematossilina notai immediatamente a contatto del cespuglio come una corona di leucociti polinucleari, con nuclei irregolari e coloriti intensamente. In mezzo a queste, ed un poco più periferiche, cellule epitelioidi che si distinguevano per una forma leggermente affusata, per nucleo grosso vescicolare, e per il protoplasma a grossi granuli. In mezzo a queste si vedeva anche qualche cellula gigante con molti nuclei disposti alla periferia. Le cellule epitelioidi più periferiche avevano una disposizione più affusata, ed erano disposte in modo, che sembrava cingessero circolarmente gli elementi cellulari più interni. Seguiva poi all'esterno di queste un accumulo di leucociti mononucleari, piccoli, rotondi.

Quarta serie. — Iniezioni delle culture in brodo.

Ad un coniglio furono iniettati due centimetri cubici di cultura anaerobica in brodo, sotto la cute del dorso.

Si formò un indurimento al punto d'iniezione, che andò progressivamente aumentando. Inciso al 20° giorno trovai un contenuto denso, puriforme, giallastro, che lasciava riconoscere al microscopio i soliti filamenti. L'animale guarì.

Due cavie furono pure inoculate sotto cute del dorso con un centimetro cubo della stessa cultura, presentarono ambedue al punto d'inoculazione un ascesso, che aperto al 10° giorno dette di nuovo in cultura pura il microorganismo. Guarigione dopo svuotato l'ascesso.

Ponendo ora in rapporto i caratteri semeiologici dell'affezione, e specialmente l'aspetto infiammatorio della medesima, la sua evoluzione lenta e continua, la cicatrizzazione avvenuta dei due seni fistolosi e della nuova incisione fatta, (quantunque i tessuti in nulla si modificassero per riguardo alla loro consistenza), con i resultati ottenuti dall'esame del secreto raccolto e dei frammenti di tessuto estirpato, dalle prove culturali e dalle inoculazioni sugli animali, mi sembra essere autorizzato ad ammettere che in questo caso l'agente patogeno sia stato appunto il fungo raggiato, l'actinomices. Infatti le reazioni speciali descritte presentate dalle forme filamentose, la divisione dicotomica osservata nei filamenti, la disposizione intricata a cespuglio dei filamenti centrali, la disposizione a raggera dei filamenti periferici, l'esistenza di forme clavate tipiche nei granuli più vecchi, e specialmente il polimorfismo che si notava spiccato e quasi caratteristico sia nella forma che nella colorabilità, polimorfismo che era manifesto non solo nei preparati fatti col pus, ma anche in quelli fatti colle culture a seconda della data di queste e del mezzo nutritivo usato: sono tutti caratteri che si trovano appunto fra quelli descritti dai vari autori come speciali per l'actinomices.

Si potrebbe forse fare l'obiezione che molte delle forme da me sopradescritte, possono sotto determinate condizioni verificarsi in una serie di microorganismi. È noto infatti come sia stata da tempo richiamata l'attenzione sulla somiglianza dell'actinomices col bacillo tubercolare, e come le nuove osservazioni sopra la tubercolosi (*Fischel*, *Coppen*, *Jones*, *Hayo Bruns*, *Babes* e *Levaditi*, *Friedreich*, *O. Schultze*, *Lubarsch*, *Droba* ed altri) abbiano dimostrato che l'agente di questa si può presentare non soltanto in forma di bacilli, ma anche in forma di filamenti, diramati, più o meno lunghi, di apparenza granulosa, con tumefazioni terminali a clava, e formanti in mezzo ai tessuti dei focolai raggiati. Nemmeno il criterio della resistenza del bacillo tubercolare alla azione decolorante degli acidi, può prendersi come segno differenziale, avendo *Marmorek*, nell'ultimo Congresso internazionale di medicina a Parigi, dimostrato, che

sotto certe condizioni anche i bacilli tubercolari perdono la loro solidità di fronte alla decolorazione cogli acidi.

Ma questa obiezione non regge, sia perchè i caratteri presentati nel mio caso tanto all'esame microscopico che alla prova culturale erano così netti, da far ritenere ferma la diagnosi di actinomices: sia anche per i resultati ottenuti colle varie inoculazioni negli animali. Infatti come abbiamo veduto, dall'ascesso sottocutaneo che si poteva equivocare con un ascesso tubercolare, siamo andati fino ad una reazione infiammatoria a tipo iperplastico ottenendo un nodulo di aspetto fibroso.

* * *

Rimane ora la questione se il caso descritto possa rientrare nel quadro di quelle affezioni infiammatorie rare, a decorso cronico, descritte col nome di flemmone ligneo. Sebbene i primi casi siano stati descritti da *Reclus* (1) nel 1896, dobbiamo però convenire che già avanti *Stromeyer* aveva richiamato l'attenzione sopra una forma d'infiammazione cronica del collo che aveva poca tendenza a suppurare, e che aveva caratterizzato col nome di flemmone sieroso.

Reclus nel 1896 ne riferì cinque casi osservati sulla parte anteriore e laterale del collo, e presentanti tutti la stessa forma clinica: cioè sviluppo lento (anche un anno) decorso afebbrile e senza fenomeni generali, consistenza caratteristica assolutamente lignea, separata da un limite netto dai tessuti sani. Si manifestano in seguito punti di rammollimento, che danno esito ad una piccola quantità di pus, e si chiudono o si cambiano in seni fistolosi, mentre che altri ascessi minuscoli si sviluppano e si aprono.

Krause nel 1889 (2) ne descrisse altri 2 casi, dei quali uno osservato sulla parete addominale anteriore fra l'ombelico e la sinfisi pubica, dimostrando così che questa forma speciale di flemmone ligneo, poteva svilupparsi anche fuori del collo e sotto le aponevrosi.

(1) Reclus, l. c.
(2) Krause, l. c.

Kusnetzoff (1) ne descrisse un altro caso nell'anno 1899, altro caso fu riferito da *Stockum* al tredicesimo Congresso di chirurgia francese (1899). Aggiungendo a questo il caso riferito da *Muhsam* (2) (1901) e quello di *M. Marsoo* (3) abbiamo 11 casi ben descritti nella letteratura chirurgica, e se a questi aggiungiamo i 3 casi comunicati da *Reynier* alla Società di chirurgia francese nella seduta del 27 maggio 1896, quello comunicato da *Quenu*, e l'altro da *Monod*, il numero dei casi sale fino a sedici.

Mentre in tutti questi casi i caratteri clinici furono sempre uguali, costanti, simili a quelli descritti da *Reclus*, e che si verificarono pure nel mio caso; non ugualmente concordi sono stati i resultati delle ricerche fatte per determinare l'agente patogeno. Questi o sono stati negativi, o si è notata la presenza di differenti batteri come stafilococchi, streptococchi, diplococchi, protei, bacilli simili a quelli della difterite, *bacterium coli*, cocchi non ben determinati, actinomices. Non si poteva quindi ammettere che questa forma d'infiammazione cronica del connettivo fosse prodotta da un agente specifico, fatto sul quale si trovarono concordi tutti i suddetti osservatori. La ragione della sua speciale evoluzione sarebbe dovuta alla virulenza attenuata dell'agente infettivo, alla reazione dei tessuti variabile a seconda degli individui e dello stato di nutrizione dei medesimi.

Per effetto quindi della virulenza estremamente ridotta dell'agente infettante si avrebbe solamente in mezzo ai tessuti un accumulo di leucociti, e la forma progrediente e lignea si spiegherebbe come effetto di inoculazioni successive che si verificherebbero nella regione, specialmente al collo, in conseguenza di angine, o faringiti croniche o a ripetizione. Studi fatti da *Marchand* (4) hanno dimostrato che se lo streptococco è poco virulento ed attenuato, i leucociti spiegano sul mede-

(1) Kusnetzoff, l. c.
(2) Muhsam, l. c.
(3) M. Marsoo, l. c.
(4) Marchand, *Etude sur la phagocitose des streptocoques attenués et virulent.* (Archives de Médecine experimentale et d'Anatomie Pathologique, Tome X, n. 2).

simo una notevole attività fagocitaria, ciò che non si verifica se è virulento; e *Bobroff* e *Rudneff* (1) hanno d'altro lato illustrato due casi nei quali lo stafilococco albo aveva dato luogo a tipici osteocondromi. Se quindi l'ipotesi della virulenza attenuata trova la sua conferma in questi fatti, rimane però meno probabile l'altra; che il carattere progrediente e ligneo della affezione, dipenda dal ripetersi d'infezioni successive che si farebbero attraverso la muccosa della faringe o per le tonsille.

Che queste siano porte d'ingresso adatte alla penetrazione dei microorganismi lo dimostrano la loro struttura, specialmente le molte insenature che presentano; le classiche osservazioni di *Stohr* (2) che ha dimostrato che il rivestimento epiteliale delle tonsille presenta normalmente delle lacune attraverso le quali possono passare continuamente dei leucociti; ed oltre numerose osservazioni cliniche gli esperimenti di *Buschke* (3) e di *Lexer* (4) che dimostrarono come i microorganismi possano annidarsi, moltiplicarsi ed aumentare la virulenza entro le cripte delle tonsille, e che anche senza ulcerazioni può avvenire la loro penetrazione. Ora tenuto conto della durata della malattia caratterizzata col nome di flemmone ligneo riesce difficilmente comprensibile, come lo stesso agente patogeno che penetra traverso le tonsille e la muccosa faringea, penetri sempre in condizioni di virulenza assai attenuata: mentre al contrario assai frequenti possono essere le cause capaci di aumentare la virulenza dei microorganismi che si trovano inniocchiati entro le cripte delle tonsille. Questa ipotesi poi si applicherebbe male per i flemmoni lignei verificatisi in altre regioni.

Per quello che riguarda l'actinomices, su cui già *Poncet* aveva richiamato l'attenzione come possibile agente patogeno

---

(1) Bobroff und Rudneff, *Staphylococcus als Ursache benigner Knochenneubildungen.* (Archiv für Klinische Chirurgie, Bd. 67, Hft. 1)

(2) Stohr, *Ueber Mandeln und Balgdrusen.* (Virchow's Archiv, Bd. 97).

(3) Buschke, *Die Tonsillen als Eingangspforte für eitererregende Mikroorganismen.* (Deutsche Zeitschr. fur Chir., Bd. 38, Hft. 4-5).

(4) Lexer, *Die Schleimhaut des Rachens als Eingangspforte pyogener Infectionen*, Bd. 54, Hft. 4.

di queste forme speciali di flemmone, si nota piuttosto una certa tendenza negli autori, specialmente nel *Muhsam*, ad escludere da questo gruppo d'infiammazioni croniche tutti quei casi, nei quali si trova l'actinomices. Anche von *Baracz* (1) tende evidentemente a cotesta separazione assoluta, quando dice: che l' actinomicosi del collo può essere scambiata facilmente col così detto flemmone ligneo.

Io dubito che tale separazione netta delle due affezioni, basandosi sopra le osservazioni che abbiamo sul flemmone ligneo, sia prematura. Infatti se prendiamo in esame i casi pubblicati, troviamo che *Reclus* in un caso trovò, come egli dice, diplococchi che secondo il carattere presentato nelle culture, non potevano ritenersi per simili agli abituali piogeni.

In due altri casi trovò corti bacilli che si colorivano bene col bleu di metilene di *Löffler* e di *Roux*, e male col *Gram*. Per il modo di comportarsi nelle culture furono diagnosticati come difterici o pseudo difterici. *Krause* in un caso trovò il pus sterile, nell' altro dei cocchi. *Kusnetzoff*, nel pus, col bleu di metilene di *Löffler*, e la fucsina di *Ziehl* trovò catene di streptococchi e corti bacilli. Su piastre di gelatina ottenne colonie puntiformi di streptococchi, e colonie di bacilli fluidificanti la gelatina, con margini dentellati, e appendici che si dirigevano verso le parti profonde. Sull' agar e sul brodo constatò invece un enorme sviluppo di streptococchi. *Muhsam* non trovò microorganismi, nè all' esame microscopico, nè col metodo delle culture.

Questi resultati batteriologici non fanno che rendere, a mio vedere, più fondato il dubbio da me sopra manifestato. Prima di tutto la mancanza dei granuli caratteristici nel pus, non esclude che si possa trattare di actinomicosi, essendovi dei casi nei quali macroscopicamente non si vede nel pus alcun granulo (*Silberschmidt*) (2). In secondo luogo ponendo mente al pleomorfismo che presenta l' actinomices, si comprende come non

---

(1) Dr. Roman von Baracz, *Ueber die Aktinomykose des Menschen auf Grund eigener Beobachtung*. (Archiv fur Klinische Chirurgie, Bd. 68, Hft. 4).

(2) Silberschmidt, *Zur bakteriologischen Diagnose der Aktinomykose*. (Deutsche medizinische Wochenschrift, No. 47, 1901).

sempre sia facile a diagnosticarsi. Gli autori che hanno studiato a fondo l'argomento della actinomicosi, hanno fatto risaltare chiaramente come qualche volta, per la difficoltà che presentano a colorarsi i filamenti, possono questi confondersi, ad una osservazione superficiale, con catene di streptococchi: e parimente le forme bacillari possono pure, ad un esame superficiale, confondersi con i bacilli della difterite. Di più è stato anche dimostrato che molti filamenti perdono ad un certo periodo della loro evoluzione, la proprietà di colorarsi con il metodo di *Gram*. È noto anche che qualche volta è riuscita vana ogni prova d'innesto sia nei substrati di cultura, che negli animali; e che la presenza dei comuni piogeni, se da una parte è dimostrato che può aumentare la virulenza dell'actinomices, rende però dall'altra assai più difficili le sue ricerche. Di qui la necessità in ciascun caso di flemmone ligneo di ricerche accurate non solo microscopiche e praticate direttamente sul materiale ottenuto dalla apertura dei focolai rammolliti; ma anche di prove culturali aerobiche ed anaerobiche sui vari substrati nutritivi e di esperimento sugli animali.

Ammettendo ora per un ipotesi che il flemmone ligneo, non costituisca una affezione speciale, ma rientri nella categoria delle lesioni prodotte dal fungo raggiato (actinomices), la sua interpretazione sarebbe assai più facile.

Il carattere principale delle lesioni prodotte dal fungo raggiato è quello del pleomorfismo, e noi abbiamo che in ciascun caso i processi di neoformazione, e quelli di distruzione e di suppurazione sono sempre variamente combinati, e che il predominare dell'uno o dell'altro (astrazione fatta da altre infezioni secondarie che possono accidentalmente innestarvisi) dipende oltrechè dal grado di recettività o di resistenza alla infezione dell'individuo o del tessuto, anche, e forse in massima parte, dal potere patogeno dell'agente infettante. L'ipotesi quindi di una attenuazione della virulenza, che produca un processo infiammatorio in massima parte iperplastico, piuttostochè suppurativo, trova più base per l'actinomices, invece che per i comuni piogeni o per altri micro-

organismi, come ammisero *Reclus*, *Kusnetzoff*, *Muhsam* ecc. Neppure vi sarebbe bisogno per spiegare la forma lignea ed il continuo estendersi in superficie, di ammettere l'ipotesi che nuove e successive infezioni vengano ad aggiungersi alla prima.

Per lungo tempo s' è ritenuto che l'actinomices non potesse essere inglobato dai fagociti, invece le ricerche di *L. Hoche* (1) hanno dimostrato che l'actinomices dotato di una leggera virulenza provoca una fagocitosi assai attiva, e che l' estensione delle lesioni è prodotta dai fagociti che trasportano i filamenti micelici. Anche *M. Benda* (2) dalle sue ricerche conclude che i leucociti hanno una certa importanza nell'estendersi delle lesioni, avendo constatato la penetrazione dell' actinomices nell' interno dei leucociti, penetrazione che è stata pure da me constatata. (Vedi esame microscopico del tessuto estirpato).

L' estendersi quindi in modo continuo dell' induramento nel flemmone ligneo, sarebbe dopo questi fatti perfettamente spiegabile colla virulenza attenuata dell' agente patogeno, e per la fagocitosi che in queste condizioni provoca.

Tale infatti è stato il decorso nel caso da me osservato. Avendo preceduto una affezione della faringe, si è avuta per questa via la penetrazione del fungo raggiato nelle parti molli profonde delle regioni cervicali posteriori. L' affezione si è poi avanzata invadendo successivamente i tessuti di strato in strato. La costituzione anatomica della regione (l' osservazione clinica giornaliera mostra infatti che anche i flemmoni acuti della nuca sono caratterizzati da un notevole induramento periferico) ma più specialmente l' attenuazione della virulenza hanno dato il predominio alla forma iperplastica, invece che alla suppurativa. Non si può parlare in questo caso d'infezione mista, sia perchè nel focolaio comparso durante la cura iodica si trovò il solo actinomices, sia perchè i comuni piogeni ed il

(1) L. Hoche, *Histogenese du nodule Actinomycosique et propagation des lesions.* (Archives de Médecine Experimentale et d'Anatomie Pathologique, Tome XI, 1899).

(2) M. Benda, Société de Médecine Berlinoise, Séances, 2, 9, 16 Mai 1900.

piocianeo si trovarono solo esistenti entro i seni fistolosi residui delle incisioni praticate.

Il nessun resultato ottenuto dalla terapia è dovuto, a mio giudizio, sia alla estensione notevole delle lesioni, sia anche al possibile aumento della virulenza dell'actinomices, aumento che si verifica (ormai è constatato) quando vi si aggiungono i piogeni.

Ho creduto opportuno riferire anche questo caso, sia perchè nella actinomicosi la localizzazione limitata solo alla regione cervicale posteriore è rara, mentre è frequente assai la localizzazione cervico-faciale: sia per il suo decorso clinico perfettamente simile a quello riconosciuto come caratteristico del flemmone ligneo; sia per lo scopo di richiamare l'attenzione su questa forma morbosa, che per la scarsità di ricerche esatte sull'agente patogeno, non è ancora certo se debba rientrare fra le lesioni prodotte dall'actinomices, o se da queste debba essere completamente separata e distinta.

Laboratorio di Materia medica e di Farmacologia sperimentale
della R. Università di Cagliari.

RICERCHE SPERIMENTALI SULLA PERISTALTICA INTESTINALE

DEL

DOTT. ITALO SIMON.

I. — Dei metodi seguiti nello studio della peristalsi intestinale.

Fino da antichissimi tempi si ebbe conoscenza dei movimenti peristaltici; *Galeno* li descrisse in modo chiaro e netto, *Haller* (1) li studiò minutamente, interpretandoli come espressione delle condizioni abnormi in cui vengono a trovarsi le intestina dopo ucciso l'animale.

Gli autori fecero distinzione tra movimento peristaltico e contrazione della parete intestinale, ben diversi dal punto di vista fisiologico e da quello della tecnica sperimentale; perciò noi possiamo dividere tutti i lavori in due gruppi:

1°. Quelli che mirano allo studio della contrazione intestinale, considerandola in un punto qualsiasi dello intestino.

2°. Quelli che mirano allo studio del come la contrazione si propaghi da un punto all'altro dell'intestino, costituendo il movimento peristaltico.

Ma tenendo conto dei metodi sperimentali adoperati, potremo distinguere le ricerche in due grandi classi, a seconda che basano sopra l'osservazione diretta od indiretta dei movimenti.

A). — *Osservazione diretta.*

α) Il primo e più semplice metodo consistette nello aprire l'addome di animali vivi od appena morti e servì di fonda-

mento a tutte le antiche descrizioni dei movimenti intestinali. Fu perfezionato da *Sanders-Ezn* (7) (1871) e da *Braam-Houckgeest* (9) (1872) i quali, per evitare l'azione dell'aria e del raffreddamento, aprirono l'addome di animali curarizzati, posti in un bagno di cloruro di sodio a 38°. Il metodo ebbe fortuna ed in seguito moltissimi sperimentatori se ne servirono, specie quando vollero portare un eccitamento meccanico, chimico, od elettrico sullo intestino. A questo modo *Braam-Houckgeest* (9) potè osservare movimenti peristaltici lievi, consistenti in una contrazione anelliforme più o meno diffusa, preceduta immediatamente da una dilatazione e da un accorciamento dell'intestino e movimenti intensi, che chiamava rotatorii, e proprii del digiuno, in cui l'onda di contrazione si diffonde a lunghi tratti d'intestino, cacciando in maniera tumultuaria verso il cieco grandi masse di contenuto intestinale.

Ma, evidentemente, l'animale con questo metodo vien posto in condizioni precarie, le quali certamente influiscono sull'andamento della peristalsi. D'altra parte troppe cose restano affidate ai sensi dello sperimentatore; per cui, se si può giudicare facilmente delle variazioni grandi, non si ottengono certo dati esatti, quando si tratti di piccoli cambiamenti e neppure è possibile farsi un concetto preciso della contrazione delle pareti intestinali e del movimento peristaltico.

3) Altri giudicarono della velocità del movimento suddetto, esaminando animali o persone munite, artificialmente gli uni, accidentalmente gli altri, di fistola intestinale. Fu il *Busch* (2) il primo che nel 1858 potè studiare un individuo, il quale presentava una fistola del tratto superiore del digiuno ed un tale appiattimento dell'addome da rendere visibili i movimenti dello intestino. Un individuo con ano contro natura alla flessura sigmoidea fu osservato da *Czerny* e *Latschenberger* (11) nel 1873. Il *Rossbach* (21) nel 1889 potè esaminare una donna con ano preternaturale nella porzione superiore dell'intestino tenue. Egli introduceva un dito nella fistola, esercitava con esso leggere pressioni, pizzicava le anse intestinali attraverso la pelle. Le pareti erano in questo caso così sottili

anche sotto l'ombellico da rendere i movimenti visibilissimi. In Italia descrisse un caso simile il prof. *Albertoni*.

γ) Una lunga serie di osservazioni dirette dei movimenti peristaltici fu eseguita infine provocando artificialmente i movimenti stessi sia mediante stimoli fisiologici (*Schiff*, *Nasse*, *S. Mayer*, ecc.), sia per mezzo di eccitazioni meccaniche (*Legros* et *Onimus*, *Brakel*), chimiche (*Nothnagel*, *Floel*), elettriche (*Horwat*, *Luderitz*). Ma è una parte di letteratura questa che trovasi assai bene riassunta nel trattato del *Luciani* (vol. I) e sulla quale perciò non mi trattengo, rimandando per i particolari e per la bibliografia al trattato suddetto.

In tutte queste esperienze però si resta sempre in dubbio che i fatti notati possano in parte dipendere dalle condizioni patologiche od almeno molto anormali in cui trovasi l'intestino.

B). — *Osservazione indiretta.*

α) *Radzeijwski* osservò animali che avevano fistole intestinali poco distanti dalla valvola ileo-cecale e giudicò della peristalsi dal momento in cui, dopo un pasto, fuorusciva il contenuto intestinale dalla fistola. *Colin* (1871) fece esperienze sul cavallo, sul bue, sul montone, cui somministrava assieme all'alimento piccoli tubi, pallottole cave, masse di carne, osservando poi il momento nel quale venivano emesse colle feci.

Moleschott (3) (1859) tenne conto del tempo che acini d'uva e lenticchie impiegavano a percorrere tutto il tubo digerente dell'uomo, dalla bocca al retto.

Questi metodi non possono darci un'idea chiara della peristalsi, per il fatto che non sappiamo quanto si fermi la sostanza nello stomaco e quanto nell'ampolla rettale.

β) Molti osservatori, servendosi di metodi grafici, studiarono l'intensità della contrazione intestinale e la diversa partecipazione che i varii strati muscolari della parete intestinale hanno nel produrla.

Il *Legros* et *Onimus* (4), primi per quanto io mi sappia, nel 1869 usarono i metodi grafici a questo scopo. Per misu-

rare l'intensità della contrazione intestinale, dapprima introdussero nello intestino un tubo congiunto alla estremità di un manometro ad acqua, poi, per impedire l'ostruzione del tubo di comunicazione da parte delle materie intestinali, aggiunsero ad esso un'ampolla di cautciù che si applicava contro la parete intestinale e ne traduceva le contrazioni; introducevano l'ampolla in una breccia praticata nell'intestino. In seguito, per evitare gli effetti del traumatismo preparavano nei cani una fistola intestinale, ed in essa per parecchi giorni lasciavano una cannula a permanenza. Quando l'animale si era perfettamente rimesso dall'operazione, introducevano nell'orifizio fistoloso una sonda di gomma, munita alla sua estremità di un palloncino di cautciù. Infine, praticata nei cani una fistola gastrica, introducevano nello stomaco per l'orifizio fistoloso una sonda di gomma munita alla sua estremità di un'ampolla di cautciù e dall'altra comunicante colla cannula; dopo un tempo variabile l'ampolla traversa il piloro e giunge nel duodeno. In tutti questi casi il tubo veniva posto in comunicazione con un apparecchio scrivente, che era un manometro, oppure un tamburo di *Marey*. In tal modo essi costruirono il primo enterografo, ma intanto, involontariamente, mettevano le basi di una nuova tecnica che servì poi all'*Hess* e ad altri per avere un criterio grafico della progressione di un corpo estraneo, così introdotto nello intestino.

Nel 1871 *Brakel*, (8) sotto la guida dell'*Engelmann*, senza citare il *Legros* et *Onimus*, ma partendo dallo stesso punto di vista, costruì un enterografo analogo.

Il *Salvioli* (14) nel 1882, per consiglio di *Ludwig*, usò per primo il metodo della circolazione artificiale in un tratto d'intestino tagliato e staccato dal suo mesentere. Così studiò l'azione di varii stimoli sulla contrazione intestinale di cui scriveva le variazioni col mezzo di leve che poggiavano direttamente sullo intestino. Mercè disposizioni speciali delle leve, scrisse separatamente le contrazioni dei varii strati muscolari della parete dell'intestino.

Nel 1899 il *Bayliss* e lo *Starling* (35) riuscirono a scrivere contemporaneamente la contrazione dello strato circolare e

del longitudinale in animali morfinizzati, senza staccare il tratto d'intestino. Essi inoltre non tagliarono, come già il *Legros* e *Onimus* ed il *Brakel* l'intestino, nè introdussero alcun palloncino nello interno del tubo intestinale ma, modificando l'idea del *Salvioli*, costrussero un nuovo speciale enterografo con leve toccanti direttamente la superficie esterna del viscere. Così giunsero a portare nuova luce sulla funzione reciproca che i due strati muscolari hanno nella produzione del movimento.

Tutti i suddetti metodi furono di grande vantaggio allo studio della contrazione intestinale in quanto fornirono criterii abbastanza esatti sulle modificazioni della sua intensità nei diversi tratti dell'intestino, ma nulla poterono dirci di preciso circa il movimento peristaltico.

γ) Perciò un'altra serie di osservatori cercò di seguire l'onda peristaltica in un lungo tratto od in tutto l'intestino di animali sani. Ma prima che si iniziassero esperimenti in questo senso, già il *Marckwald* (12) aveva nel 1875 introdotto spugne fissate con fili in un ano preternaturale dell'uomo, prodotto da cangrena nel sito di passaggio dal cieco al colon ascendente, e ne aveva seguito il movimento un certo tempo.

Fu il *Fubini* (15) che nel 1882, primo per quel ch'io mi sappia, adoperò sugli animali questa tecnica. Dopo che il *Vella* ebbe modificata la fistola del *Thiry* egli praticò l'operazione in varii animali e si servì di essi nel modo che diremo. Le prime osservazioni furono eseguite in un cane nel quale, praticata la fistola suddetta nella regione del tenue, si aveva un tratto di ansa intestinale della lunghezza di cent. 6. Introdotta una pallottola di ceralacca liscia e levigata nel capo superiore dell'ansa fistolosa, contava il tempo impiegato da essa a traversare i 6 centimetri dell'ansa. Manifestamente però l'ansa era in questo caso troppo corta per cui poco si poteva arguire. Perciò il *Fubini* perfezionò il metodo che espose in un secondo lavoro fatto in unione col dottore *Luzzati* (16). L'ansa era lunga circa trenta centimetri e l'animale veniva posto nell'apparecchio di contenzione del *Bernard*. Nell'apertura superiore dell'ansa introduceva un cece attaccato ad un filo di seta. Il filo, teso in alto verticalmente, dalla

fistola passava nella gola di una carrucola e portava attaccato all' altra estremità libera un peso variante da 2 a 4 grammi, che scorreva libero lungo un'asta metallica graduata in millimetri. Lo esperimento durava fino a che il cece, introdotto da un lato dell' ansa, fuorusciva dall' altro.

Su questa via *I. Hess* (1887) (20) fece nuove ricerche. Egli, al modo di *Legros* e *Onimus*, operò di fistola gastrica un cane di chilogr. 36,000: la fistola distava pochi centimetri dal piloro, in modo che un dito, introdotto nello stomaco, potesse facilmente raggiungere il piloro e spingersi nella porzione iniziale del tenue. Preparato così il cane, introduceva nello stomaco un palloncino di cautciù della capacità da 20 a 30 cm^3, terminante con un tubo al quale si innestava un lungo e più sottile tubo pure di cautciù. Sulla faccia esterna di esso era tracciata una divisione in centimetri e, per impedirne l' incurvamento, veniva attraversato da uno spesso mandrino. Introdotto il palloncino, si riempiva d' acqua e con una legatura si chiudeva l' estremità esterna del tubo. In seguito il tubo veniva a poco a poco ingoiato, ed essendo graduato, si poteva facilmente sapere di quanto esso si affondava, fino a che il palloncino compariva poi all' ano. *Hess* afferma che durante l' esperienza l' animale non soffriva il minimo disturbo.

Il metodo fu poi adoperato con qualche leggiera modificazione da *Brand* e *Tappeiner* (1889). (24).

Nel 1899 *Sabbatani* e *Fasola* (33, 36) cercando di studiare la direzione del movimento peristaltico per mezzo di tecniche operatorie speciali sulle intestina di cani, successivamente osservarono il modo di comportarsi di un' ansa intestinale quando comunicava direttamente con un'altra ansa sottostante a direzione invertita, o quando comunicava con due anse sottostanti le quali, ora avevano la stessa direzione discendente, ora invece direzione inversa, ascendente l' una, discendente l'altra. Così, usufruendo di alcuni animali operati di fistole, che essi chiamarono ascendenti, introdussero per esse delle palline che, raccomandate ad un filo, alla guisa di *Fubini*, permettevano di seguire il movimento peristaltico quando l'animale era

fisso nello apparecchio Cyon. Ed è appunto questo il metodo da me adoperato nelle esperienze che andrò esponendo.

* * *

Ora il metodo del *Fubini*, pur rappresentando un vero progresso nella tecnica sperimentale, non è certo da seguirsi in quanto l'intestino sul quale si esperimenta è tagliato fuori del circolo intestinale e non funziona affatto. Il metodo di *Hess* poi, pur presentando sul primo un notevole vantaggio ed essendo più rispondente al concetto dal quale è sorto, se poteva prima delle mie esperienze offrire un particolare valore, in quanto permetteva di operare sull'intestino normalmente funzionante, ora non lo ha più. Difatti, per alcuni rapporti funzionali esistenti fra intestino e stomaco, di cui parlerò in seguito, non può ritenersi normalmente funzionante un intestino, se lo stomaco è costantemente irritato in primo luogo da una fistola e poi dalla presenza di un corpo straniero. D'altra parte l'eccitamento della mucosa intestinale è causa di perturbazione del funzionamento dell'intestino, e non altro che abnorme potrà definirsi l'azione del tubo che, adagiandosi lungo l'intestino a guisa d'una immensa tenia, ne stimola in modo continuo la mucosa.

Riguardo al metodo *Sabbatani-Fasola* si potrà obbiettare che con esso non è possibile allo esperimentatore di fare osservazioni dirette che sull'ultima porzione del tenue e sullo intestino crasso, ma questa non è obbiezione che tolga valore ai nostri risultati: è soltanto una limitazione sperimentale nel campo di osservazione. Potrà pure osservarsi che il breve tratto dalla fistola al T rimane tagliato fuori dal circolo intestinale ed è inerte, ma ciò, in quanto accorcia il tubo intestinale di pochi centimetri, non è cosa di importanza per la salute dell'animale, poichè sappiamo dalle ricerche del *Monari* (29), del *Filippi* (28), dal caso clinico del *Ruggi* (30), e più che tutto dalla recente pubblicazione del *Nigrisoli*, in cui trovasi riportata una letteratura completa (42), che si può portar via una gran parte del tenue senza che l'animale o l'uomo venga a soffrirne; e per quel che riguarda il movimento della

pallina, osserveremo che la medesima si introduceva profondamente, portandola più che potevasi vicina al T dello intestino normalmente e continuamente funzionante. A chi opponesse poi che la pallina per la sua consistenza poteva produrre una irritazione meccanica sulle pareti intestinali diremo che essa era liscia, ben levigata ed unta, ricordando in pari tempo come assai frequentemente passino pel tubo intestinale del cane scorie alimentari e corpi stranieri, producenti maggiore irritazione meccanica. Del resto nel retto del cane si formano masse considerevolmente dure di sali calcari, i cosidetti *album graecum*, i quali, per quel che è a mia conoscenza, non portano gravi disturbi al normale funzionamento dell'intestino. A sfatare poi un'altra facile obbiezione, che cioè possa la pallina in condizioni fisiologiche talvolta ostruire il lume del tubo intestinale, affondata la pallina, quando ancora si trovava nel tratto fistoloso, versai nella fistola cm.^{3} 150 di soluzione fisiologica, che prontamente passò nel tenue. Infine la considerazione che noi giudichiamo della peristalsi esaminando il movimento di un corpo straniero, che veramente non è entrato nello intestino per la via normale, dallo stomaco, non può minimamente infirmare i nostri resultati sperimentali.

II. — Metodo da noi seguito.

Si preparavano dapprima gli animali, che dovevano servire per le nostre esperienze, operandoli di fistola ascendente dei tenui a non molta distanza dalla valvola ileo-cecale; tagliato trasversalmente il tenue, il moncone periferico viene fissato alla parete addominale, costituendo l'apertura fistolosa, ed il moncone superiore viene suturato a T nell'inferiore a non molta distanza dall'apertura fistolosa; quando poi gli animali eran guariti dall'atto operativo, allora si incominciavano le osservazioni, seguendo il movimento di palline introdotte nella fistola.

Scegliemmo sempre cani femmine perchè, mancando per la disposizione dei genitali esterni una fonte di lordura, le

fistole si possono mantenere pulite nel periodo della guarigione, allontanando perciò il pericolo di infezioni. Il cane, digiuno da 24 ore, poco prima dell'operazione veniva sottoposto alla lavatura dello stomaco e ad enteroclisi. Compiuta poscia un'accurata toeletta, lo si anestetizzava con morfina e cloroformio e si procedeva all'atto operatorio, eseguito colla più scrupolosa asepsi. Dopo 48 ore di digiuno assoluto si somministravano alla bestia cm³. 50 di latte o di acqua, seguitando poi con una dieta lattea, cangiata da ultimo in carnea e mano mano aumentata e variata. Già *Sabbatani* e *Fasola* (36) poterono riferire d'una cagnetta del peso di chilogrammi 3 che operarono di fistola ascendente il 14 marzo 1900. Il T distava cent. 15 dalla valvola ileo-cecale, ed il tratto di ansa corrispondeva a cent. 5 per kg. di animale.

Ai 31 dello stesso mese il cane era ristabilito non solo, ma aveva superato di 100 grammi il peso primitivo. L'animale visse a lungo e fu sacrificato più tardi per ulteriori ricerche. Per le mie ricerche adoperai tre cagnette.

Prima. — Peso klg. 3.700: operata ai 4 del dicembre 1900. Dalla sutura a T. alla valvola ileo-cecale si isolarono cent. 42 misurati all'atto dell'operazione, equivalenti a cent. 11.3 per klg. di animale: dal T alla fistola cent. 10. La bestia, sebbene nutrita abbondantemente, dopo un breve periodo di benessere andò man mano sempre più perdendo maggior copia di contenuto intestinale dalla fistola, sicchè in uno stato di profondo marasmo morì dopo 37 giorni. Alla necroscopia non apparve la minima traccia di peritonite: solo si notò una piccola aderenza del grande omento in corrispondenza della sutura a T. Il T trovavasi a cent. 38 dalla valvola ileo-cecale ed a cent. 12 dalla fistola addominale.

Seconda. — Peso klg. 6.050: operata ai 26 dicembre 1900. Dalla sutura a T. alla valvola ileo-cecale cent. 32 corrispondenti a cent. 5.3 per klg.: dalla fistola al T cent. 7. La bestia andò man mano scemando di peso fino ad un *minimum* di klg. 4,600; ma poi crebbe di nuovo e raggiunse un limite di klg. 5,600. Infine, lasciata lungamente in riposo e sottoposta ad un ottimo regime alimentare, raggiunse e sorpassò il peso primitivo.

Dopo un anno e mezzo circa, il 14 giugno 1902, la uccidiamo con cloroformio. Aperto l'addome, il peritoneo si presenta perfettamente normale. Solo si trova una limitatissima aderenza di un lembo del grande omento colla parete addominale ed in corrispondenza della sutura a T

di cui però non si nota traccia. I tratti d'intestino non presentano nulla di speciale.

Quattro ore e mezzo dopo la morte, dopo aver lavato ripetutamente il tubo intestinale, prendiamo le misure dello intestino e troviamo: dal T alla valvola ileo-cecale cent. 20; dalla fistola al T cent. 6: dal piloro alla valvola ileo-cecale cent. 214. Adunque noi esperimentammo sulla undicesima parte del tenue. Aperto l'intestino, la mucosa del tratto fistoloso e di quello che sta sopra al T si appalesa colorata d'una tinta giallastra, che manifestamente è dovuta a bile. Nel tratto che sta tra il T e la valvola ileo-cecale la mucosa appare scolorata ed ha una tinta biancastra. Questo sta a dirci che quest'ultimo tratto funziona meno dei due suddetti, in quanto, fuoriuscendo una parte del contenuto intestinale dalla fistola, esso viene attraversato da una minore quantità di sostanze.

Terza. — Peso klg. 6,200: operata ai 26 del gennaio 1901. Dalla sutura a T alla valvola ileo-cecale cent. 19 corrispondenti a cent. 3 per klg. di animale: dal T alla fistola cent. 7. La bestia calò dapprima di peso fino ad un *minimum* di klg. 5,100, ma riacquistò ben presto il peso primitivo che talora oltrepassò. Sacrificatala dopo 6 mesi, si trovò che dalla valvola al T decorrevano cent. 16 e dalla fistola al T cent. 4. Nessuna traccia di peritonite.

Dall'esito degli atti operativi di questi animali vediamo che una fistola ascendente è compatibile colla vita solo quando il T non è a grande distanza dalla valvola ileo-cecale. Infatti di questi animali morì solo il primo, del quale si erano isolati cent. 42, corrispondenti a cent. 11,3 per klg. d'animale.

Per studiare il movimento peristaltico, si introducevano nella fistola palline di legno, forate, del diametro di mm. 10 circa, a cui si fissava un filo cerato. Fatti sul filo due segni, distanti il primo centimetri dieci dal suo punto di attacco alla pallina ed il secondo centim. dieci dal primo, si introduceva la pallina nella fistola, spingendola in alto per un tratto che in media non oltrepassava i mill. 50. Naturalmente pei segni fatti sul filo poteva misurarsi di quanto si affondava. Si fissava poi la bestia sull'apparecchio *Cyon* e, nello intento di evitare possibili cause d'errore, si cominciava a contare da questo momento, trascurando il brevissimo tempo che passava dalla introduzione della pallina nella fistola, al completo fissamento dell'animale sullo apparecchio. Il filo, che dalla fistola scendeva verticalmente in basso, veniva fatto passare nella gola

di due carrucoline metalliche bene scorrevoli e portava attaccato alla sua estremità libera un piattino di alluminio del peso costante di gr. 3,35. La prima carrucola era fissata nel piano su cui l'animale posava le zampe e verticalmente sotto l'apertura fistolosa: l'altra serviva a portare il piattino di fianco ed un po'lontano, in modo che si potessero leggere comodamente lungo un regolo verticale e fisso, graduato in millimetri, gli spostamenti del piattino, il quale dai movimenti della pallina lungo il tubo intestinale veniva sollevato più o meno rapidamente. Però la pallina, appena introdotta, rimaneva immobile un certo periodo di tempo che fu designato come « tempo d'aspetto ». La pallina in seguito compiva un dato percorso che variava a seconda delle condizioni sperimentali. Ogni dieci minuti si leggeva sul regolo lo spostamento del piattino. La pallina poi giunta ad un dato punto si fermava; allora con un colpo di forbici a livello della fistola si tagliava il filo.

In seguito la pallina veniva emessa colle feci e ad essa stava attaccato un tratto di filo dalla lunghezza del quale si aveva un controllo ai valori trovati colla esperienza.

I pasti infine, per lo più somministrati ad ore fisse ed in qualità e quantità determinate, venivano variati a seconda degli scopi sperimentali.

Le esperienze riuscivano meglio nella stagione calda e nelle intermedie: durante l'inverno, specie nelle giornate fredde, non solo gli animali sui quali sperimentavo, ma anche altri cani, esistenti nel cortile del laboratorio, erano spesso in preda ad enterite, sicchè in questo caso, volendo far qualche esperimento, ero costretto di portare la bestia su in laboratorio e di lasciarvela prima almeno una giornata.

Con questo metodo feci sui tre animali, di cui sopra ho detto, complessivamente 108 esperimenti, di parecchi dei quali però non potei tener conto per gli inevitabili errori in cui talvolta si incorre.

III. — Peristalsi in condizioni fisiologiche.

a) — *Preliminari.*

Considerai normali le condizioni dell'intestino allorchè l'animale nei giorni anteriori all'esperienza e nei seguenti mangiava con appetito ed emetteva feci ben formate, e quando si ebbe un andamento dell'esperienza tale che la pallina compiva senza interruzioni il suo cammino nel tubo enterico con certi particolari fenomeni di cui dirò più tardi.

In una prima serie ho riunite alcune esperienze tipo, eseguite a distanza varia dai pasti, che trovansi riassunte in una prima tabella: in una seconda serie di esperienze, essendo sempre l'animale in ottime condizioni, credetti opportuno di studiare come si modificasse il movimento peristaltico per l' ingestione del pasto (Tabella II).

Mi limito per ora a presentare riuniti semplicemente in queste tabelle i dati desunti dalle esperienze, riservandomi di discutere più tardi il valore che possono avere.

Le esperienze 97, 98, 99 e 101 furono eseguite sulla terza cagnetta: tutte le altre sulla seconda. Le ultime tre si fecero mentre la bestia era digiuna da molte ore. La media delle velocità medie è la seguente:

2ª *Cagnetta.* — A stomaco pieno = mm. 10.9.
» A stomaco vuoto = mm. 7.0.
3ª *Cagnetta.* — A stomaco pieno = mm. 8.4.

Tabella I^a.

Numero della esperienza	DATA	Durata delle esperienze	Distanza dall'ultimo pasto in ore	Qualità del cibo	Quantità in gr.	Profondità a cui venne affondata la pallina mm.	Tempo d'aspetto ore	Cammino in mm.	Velocità in 10' media mm.	Velocità in 10' mass. mm.	Qualità delle feci
XLVII	22 Luglio 1901	5.00'	0.05'	misto	250	60	0.50'	270	18.5	82	Formate
XLVIII	24 » »	4.00'	0.10'	»	300	50	0.20'	250	11.3	46	Formate
LXIII	28 Novembre 1901	5.00'	3.15'	»	200	40	0.30'	320	9.5	35	Formate
LXIV	30 » »	4 15'	3.00'	»	200	40	0.10'	250	10.8	45	Formate
LXV	2 Dicembre 1901	4.05	2.40'	»	200	40	0.20'	185	9.7	60	Formate
LXVI	4 » »	4.00'	2.10'	»	200	40	0.10'	220	11.0	45	Formate
LXXVIII	13 Febbraio 1902	4 20'	5.10'	»	200	40	0.20'	240	10.8	»	Formate
XCVII	5 Aprile 1901	4 50'	2.25'	»	200	60	0.30'	158	8.8	83	Formate
XCVIII	16 » »	4 30'	3.40'	»	200	50	0.20'	132	8.2	48	Formate
XCIX	20 Maggio 1901	5 10'	3.35'	»	200	75	1.00'	105	8.0	20	Formate
CI	25 » »	5.00'	2.25,	»	200	60	0.50'	190	8.8	65	Formate
V	20 Gennaio 1901	5.20'	15.20'	»	300	0	.....	.....	6.8	55	Formate
XIV	8 Marzo 1901	4.20'	17.30'	»	300	0	.....	.....	6.4	35	Formate
LXXXIII	11 Aprile 1902	4.30'	27.00'	»	300	0	...	...	7.8	60	Formate

Tabella II^a.

Numero delle esperienze	DATA	PRIMA DEL PASTO							Pasto quantità in gr.	DOPO IL PASTO					
		Stato dello stomaco	Affondam. della pallina mm.	Tempo d'aspetto ore	Durata dell'osservazione ore	Cammino percorso mm.	Veloc. in 10' media mm.	Veloc. in 10' mass. mm.		Tempo d'aspetto ore	Durata dell'osservazione ore	Ascens. finale	Veloc. in 10' media mm.	Veloc. in 10' mass. mm.	Emissione della pallina dopo ore
XLV	17 Luglio 1901	vuoto	70	0	2.50'	144	9.6	55	380	0.50'	2.10'	228	7.3	20	6 a 18
XLVI	18 Luglio 1901	»	50	0	2 10'	235	18.8	80	400	0.70'	3.10'	370	7.1	40	11 a 24
L	29 Luglio 1901	»	40	0	0.30'	45	15	25	350	0.20'	5.00'	180	6 8	30'	25.00
XXXVII	21 Maggio 1901	»	45	0	0.50'	40	8	27	300	0.20'	3.40'	225	10.7	75	6.35

I dati di cui mi valsi per comporre le precedenti tabelle sono di due ordini. Alcuni (distanza dal pasto, quantità del cibo) sono necessarii affinchè noi conosciamo bene le condizioni dell'animale prima della esperienza, altri (affondamento della pallina, tempo d'aspetto, velocità media e massima, qualità delle feci emesse dopo l'esperienza) ci dicono del modo col quale questa procedette.

b) — *Cammino percorso e qualità delle feci.*

Come si rileva dalle tabelle, il cammino percorso è assai variabile. La pallina ad un dato punto si arresta e noi riteniamo in genere che si fermi quando sia giunta nei crassi — a questo si può obbiettare che il piattino non s'è sollevato tanti centimetri quanti ne intercorrono tra il T e la valvola ileo-cecale. Ma questi sono due valori che non si possono identificare, tanto è vero che:

1°. Esiste sempre notevole differenza tra le misure prese sull'intestino all'atto dell'operazione e quelle che si trovano poi all'autopsia.

1ª Cagnetta. — Atto operatorio. Dalla fistola al T cent. 10: dal T alla valvola ileo-cecale cent. 42.

Autopsia. Dalla fistola al T cent. 12: dal T alla valvola ileo-cecale cent. 38.

2ª Cagnetta. — Atto operatorio. Dalla fistola al T. cent. 7: dal T. alla valvola ileo-cecale cent. 32.

Autopsia. Dalla fistola al T cent. 6: dal T alla valvola ileo-cecale cent. 20.

3ª Cagnetta. — Atto operatorio. Dalla fistola al T cent. 7: dal T alla valvola ileo-cecale cent. 19.

Autopsia. Dalla fistola al T cent. 4: dal T alla valvola ileo-cecale cent. 16.

2°. Il filo non segue tutte le volute dell'intestino, ma si dispone lungo la linea più breve dando una lunghezza totale inferiore a quella dell'intestino nel quale è contenuto.

A questo proposito già *Brand* e *Tappeiner* (24) hanno fatto notare che, tanto nel caso studiato da essi, come in quello pre-

cedentemente veduto da *Hess*, esisteva una grande differenza fra la lunghezza dell'intestino determinata col loro metodo e quella valutata dalla lunghezza del corpo col metodo di *Crampe* (*Archiv f. Anath. und Physiol.*, 1872, S. 659). Inoltre, ad esperienze finite, cloroformizzato l'animale e posto l'intestino allo scoperto, constatarono che anche col tubo di gomma non si ha una misura esatta dello intestino.

3° L'osservazione diretta poi ci ha dimostrato che veramente, allorchè il piattino si ferma, la pallina è giunta nei crassi ed è pressata contro la massa fecale.

Esperienza CV. — 21 giugno 1901. — *3ª Cagnetta.* — Alle 12,20′ affondo la pallina mm. 50 nell'apertura fistolosa e fisso la bestia nell'apparecchio. Alle 17,20′ la pallina ha percorso mm. 185. Slegata allora la bestia rapidamente dall'apparecchio *Cyon* e tagliato il filo attaccato al piattino, lasciandone cent. 10 all'infuori della fistola, l'uccido con puntura al bulbo. Constatato che i cent. 10 di filo non erano stati inghiottiti, apriamo l'addome. Il sangue zampilla da tutte le parti, l'intestino è immobile e si pone subito un Pean tra il tenue e la valvola ileo-cecale. La pallina viene ritrovata nello intestino crasso a cent. 10 dalla valvola suddetta. Misurando poi si riscontra che dalla valvola al T decorrono cent. 16 e dal T alla fistola cent. 4. Adunque in cent. $10 + 16 + 4$ (= mm. 300) di intestino si contenevano cent. $5 + 18\,^1/_2$ (= mm. 285) di filo, cioè una differenza di ben mm. 65, che stanno appunto a dimostrare l'errore che si ha costantemente per la disposizione del filo nel tubo intestinale.

D'altra parte è chiaro che, se la pallina trova il crasso pieno di materiali, dovrà fermarsi in un punto più alto di quel che non avvenga quando il crasso è vuoto. Ed in rapporto a questo fatto solo alcune volte la pallina viene emessa colla prima evacuazione che segue all'esperienza; in genere però l'emissione della pallina avviene a distanze varie assai dall'ora della introduzione. Quindi mi preme far notare che non tenni alcun conto del tempo trascorso dalla introduzione alla emissione della pallina colle feci e ciò per due ragioni:

1°. Noi sappiamo che il criterio non è buono perchè le feci rimangono un dato tempo nell'ampolla rettale e ci sfugge quanto vi soggiorni con esse la pallina.

2°. La bestia sulla quale eseguii la maggior parte delle mie esperienze (seconda) rimangiava talora le feci.

Perciò mi contentavo di constatare la qualità delle feci emesse dopo le singole esperienze e solo in eccezionali circostanze, cercavo di avere la pallina appena emessa, sorvegliando diligentemente l'animale.

Infine il cammino percorso varia, come vedremo in seguito, a seconda

che lo stomaco e l'intestino sono pieni o vuoti, in quanto nel primo caso la pallina compie un cammino apparentemente maggiore che nel secondo. Dico apparentemente, perchè in entrambi il tratto d'intestino percorso è lo stesso, solo che la prima volta l'intestino è pieno di materiale nutritizio e perciò disteso, nel secondo caso è vuoto o quasi e le sue pareti afflosciate possono formare un maggior numero di volute. Per questo il filo, che segue la via più breve, pur raggiungendo il limite solito, simula una minor velocità ed un cammino più breve.

c) — *Velocità media e sue variazioni.*

A) *Andamento generale della peristalsi.* — Ho detto sopra come ogni dieci minuti primi si notava il cammino percorso dalla pallina. Ad esperienza finita si divideva il percorso fatto dalla pallina per il numero dei tempi contati (intervalli di dieci minuti primi): si otteneva in questo modo la velocità media della pallina nel suo percorso lungo il tubo intestinale.

La velocità media varia da cane a cane. Così nella 2° bestia troviamo una velocità media, a stomaco pieno, di mm. 10,9 ogni 10′, nella 3ª pure a stomaco pieno, una velocità media di mm. 8,4 ogni 10′. Inoltre nei singoli animali presenta oscillazioni notevoli a seconda dello stato dell'intestino e ci fa pensare che questo, come organo dotato di una funzione variabilissima, è munito di validi mezzi di adattamento. In armonia con un tal fatto, a dimostrare la mutabile intensità della contrazione intestinale, la velocità massima presenta variazioni assai grandi (vedi tabella Iª).

Introducendo la pallina nella fistola sia a stomaco vuoto, sia a stomaco pieno, sempre constatammo che essa si pose in movimento; epperò cercammo di studiare prima la velocità media in genere e poi le sue variazioni, sia a stomaco pieno, sia a stomaco vuoto. Noi trovammo in genere che:

1° La peristalsi, a digiuno, ed a stomaco pieno, è più intensa quanto più in alto ci troviamo nel tenue e subisce un decrescendo caratteristico e costante mano mano che ci avviciniamo ai crassi, per cui il tratto d'intestino percorso nella prim' ora è più lungo di quello percorso nelle successive e la velocità media corrispondentemente decresce (vedi tabella IIIª).

Tabella III ª.

Numero delle esperienze (¹)	DATA	Distanza dal pasto ore	Affondamento della pallina mm.	Tempo d' aspetto	1ª ora		2ª ora		3ª ora		4ª ora		5ª ora	
					Cammino mm.	Velocità media mm.	Cammino mm.	Velocità media mm.	Cammino mm.	Velocità media mm.	Cammino mm.	Velocità media mm.	Cammino mm.	Velocità media mm.
XLVII	22 Luglio 1901	0.05′	60	0 50′	205	36.0	25	4.1	25	4 1	15	2.5	»	»
XLVIII	24 » »	0.10′	50	0.20′	130	21 6	95	15.8	10	1.6	23	3.7	»	»
LXVI	4 Dicembre 1901	2.10′	40	0.20′	125	20 8	75	9 1	30	5.0	12	2.0	»	»
LXV	2 » »	2.40′	40	0.20′	120	20.0	45	7.5	15	2.5	7	1.2	»	»
LXIV	30 Novembre 1901	3.00′	40	0.20′	165	27.5	40	6 6	30	5.0	15	2.5	»	»
LXIII	28 » »	3.15′	40	0.30′	140	23.3	60	10.0	15	2.5	20	3.3	0	0
V	20 Gennaio 1901	15 30′	50	0	95	15.7	51	8.5	16	2.6	10	1.6	18	3
XIV	8 Marzo 1901	17.30′	70	0	85	14.1	35	5.8	10	1 6	10	1.6	»	»
LXXXIII	11 Aprile 1902	27.00′	40	0	110	18.3	15	2.5	20	3.3	20	3 3	0	0
XCVII	5 Aprile 1901	2.15′	60	0.50′	84	14.0	41	6.8	35	5 8	0	0	0	0
XCVIII	16 » »	3.40′	50	0.20′	45	7.5	77	12.8	10	1.6	0	0	0	0

(¹) Le esperienze XCVII e XCVIII furono fatte sulla terza cagnetta.

2° Nel crasso ordinariamente la pallina si arresta, oppure procede lentissima, e la velocità si mantiene inferiore a quella del tenue.

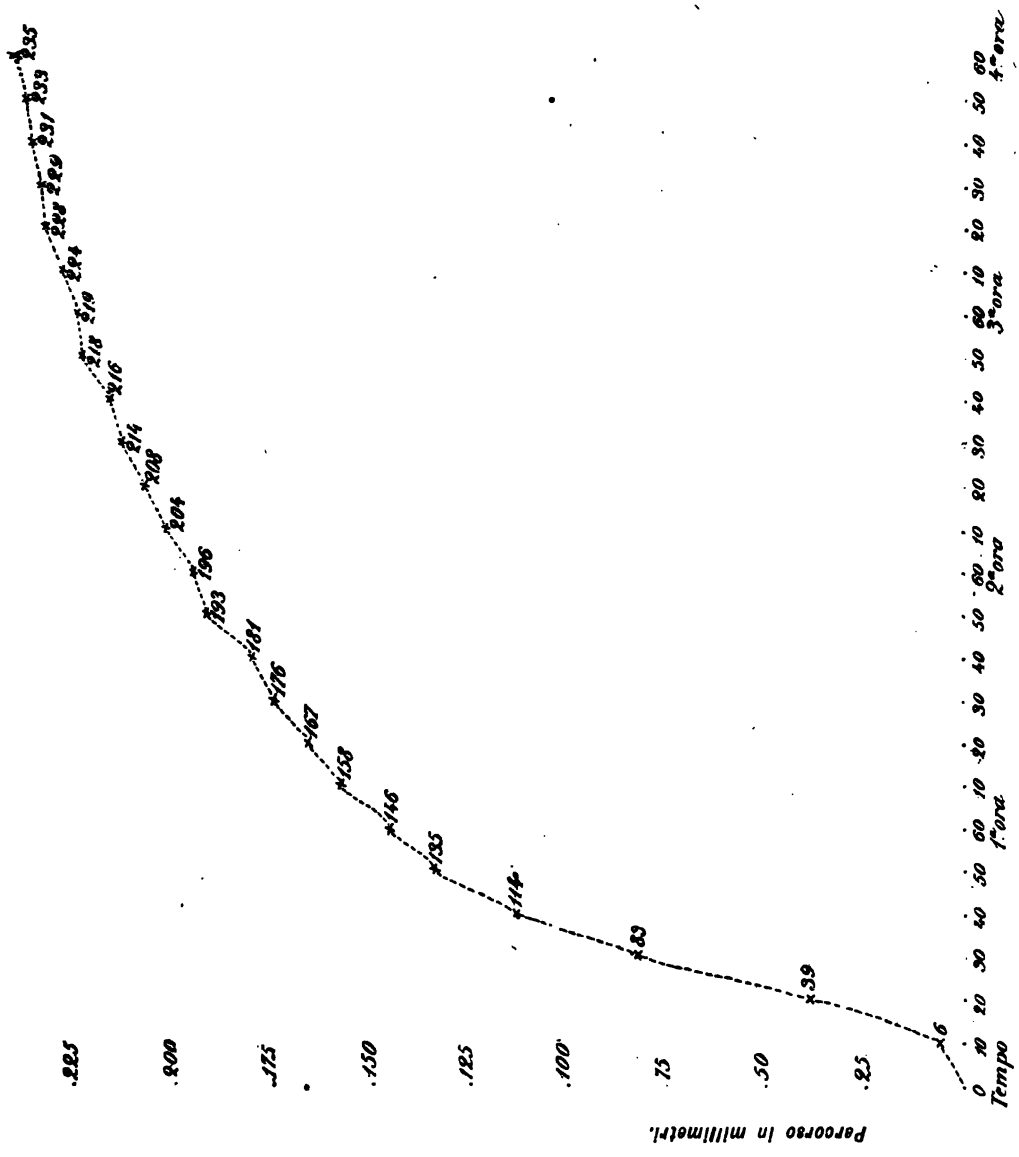
Colla scorta delle medie ottenute nella seguente tabella (*A*) mi fu assai facile costruire la grafica del movimento della pallina lungo l'intestino.

Tabella *A*. (1)

Numero della Esperienza	Data	Percorso della pallina in millimetri nei singoli intervalli di tempo.																							
		10	20	30	40	50	60	10	20	30	40	50	60	10	20	30	40	50	60	10	20	30	40	50	60
		1ª ora						2ª ora						3ª ora						4ª ora					
XLVII	22 Luglio 1901 ...	2	56	84	50	10	5	5	5	7	3	10	0	0	10	0	0	0	0	15	10	5	0	0	0
XLVIII	24 » »	15	30	25	17	35	8	7	0	0	25	46	0	25	8	4	0	0	0	0	0	0	10	5	—
LXIII	28 Novembre 1901.	5	25	30	35	35	10	10	5	10	5	10	20	0	5	0	5	0	5	0	5	0	0	0	10
LXIV	30 » »	5	45	20	40	20	35	30	0	10	0	0	0	10	0	0	10	10	0	10	0	0	0	5	0
LXV	2 Dicembre 1901..	10	30	60	15	0	0	15	15	10	0	5	0	5	0	10	0	0	0	5	0	0	0	—	—
LXVI	4 » »	2	15	45	30	25	10	5	30	20	0	0	0	10	0	20	0	0	0	0	10	0	0	0	0
Totale del cammino percorso dalla pallina in 10′ in mm		39	201	264	191	130	68	72	57	57	33	71	20	50	23	34	15	10	5	30	25	5	10	10	10
Cammino medio percorso in in 10′ = mm.....		6	33	44	31	21	11	12	9	9	5	12	3	8	4	6	2	2	1	5	4	1	2	2	2

(1) Tutte le esperienze raccolte in questa tabella furono eseguite sulla seconda bestia dopo un pasto, in ottime condizioni fisiologiche.

Grafica del movimento della pallina lungo l' intestino
(vedi tabella *A*).



B) *Velocità media nel tenue a stomaco pieno e vuoto.* — Era già noto che dopo un pasto i movimenti peristaltici sono assai intensi. *Braam Houckgeest* potè notare i movimenti rotatorii quando il duodeno era ripieno. *Rossbach* vide i liquidi proiettarsi nel duodeno. Io potei constatare che:

1° Dopo un pasto la velocità media è maggiore che a digiuno (vedi tabella IV).

Tabella IVª.

Numero delle esperienze	Distanza dal pasto ore	Velocità media in 10′ durante la 1 ora mm.	2ª ora mm.	3ª ora mm.	4ª ora mm.	5ª ora mm.	Numero delle esperienze	Distanza dal pasto ore	Velocità media in 10′ durante la 1ª ora mm.	2ª ora mm.	3ª ora mm.	4ª ora mm.	5ª ora mm.
V	15.30′	15.7	8.5	2 6	1.6	3	XLVII	0 05′	36 0	4.1	4 1	2.5	»
XIV	17.30′	14.1	5.8	1.6	1.6	»	XLVIII	0.15′	21.6	15.8	1.6	3 7	»
LXXXIII	27.00′	18.3	2.5	3.3	3.3	0	LXVI	2.10′	20.8	9.1	5.0	2.0	»
							LXV	2.40′	20.0	7.5	2.5	1 2	»
							LXIV	3.00′	27.5	6.6	5.0	2.5	»
							LXIII	3.15′	23.3	10.0	2.5	3 3	»

2° La velocità media e lo spazio percorso nei primi dieci minuti sono tanto più grandi quanto è minore la distanza dall'ultimo pasto. Il fatto è notevole in ispecie nelle prime due ore, nelle quali la velocità, allorchè l'animale ha mangiato da poco, è tale che basta per far giungere la pallina assai vicina alla valvola ileo-cecale o addirittura nei crassi.

* * *

Torna ora a proposito di confrontare le conclusioni di queste mie esperienze con quanto già era stato scritto dagli autori.

È oggi ammesso che la motilità non solo offre differenze notevoli nel tenue e nel crasso, ma anche nelle diverse parti del tenue (*Albertoni* e *Stefani*).

Il *Colin* fondandosi sulla semplice ispezione insegna: « I movimenti intestinali sono molto frequenti nel duodeno costantemente stimolato per il passaggio delle onde di chimo: sono ancora abbastanza intensi nel tratto superiore dello intestino tenue, ma si rilasciano nel resto del viscere ». Queste vedute del *Colin* sono confermate dal *Luciani* il quale, fondandosi sulle ricerche sperimentali dei varî osservatori, ammette che la velocità e la forza dei movimenti intestinali diminuiscono regolarmente dal duodeno al digiuno e dal digiuno all'ileo.

Riguardo al digiuno sappiamo che gode d'una velocità assai grande. *Rossbach* (18, 21) vide nei suoi esperimenti che i liquidi vengono proiettati addirittura dal piloro al duodeno: *Brand* e *Tappeiner* (24) trovarono una velocità grande appena passato il piloro: *Braam Houckgeest* (9) osservò che i movimenti peristaltici più intensi si producono nel duodeno.

Ma già prima di essi *Legros* e *Onimus* (4) così scrivevano. « Generalmente le contrazioni intestinali si succedono più rapidamente nella parte superiore dell'intestino tenue che verso la sua terminazione. Questa particolarità può contribuire a spiegarci perchè le porzioni superiori del canale digestivo sono il più delle volte vuote, il movimento peristaltico più vivo ed inoltre le materie più liquide ».

Ed è ben logico che quel tratto d'intestino sia sede di un movimento così attivo poichè in esso avviene il cambiamento della reazione del chimo (*Rossbach*). Nei tratti seguenti del tenue il movimento è minore dovendo il contenuto intestinale ristagnare più a lungo per subire il chimismo dei succhi con cui è mescolato e per l'assorbimento che ivi si compie. E la parete muscolare dapprima, in vicinanza dello stomaco, assai sviluppata, in armonia col movimento vivace, col decrescere di questo diminuisce di spessore come *Sabbatani* e *Fasola* (36) dimostrarono nel cane.

Nell'ultimo tratto del tenue l'assorbimento è in gran parte avvenuto, il contenuto intestinale è diventato più denso e la velocità, come io potei constatare, segue un abbassamento caratteristico e costante. Ma qui la muscolatura è ridiventata spessa; *Sabbatani* e *Fasola* dimostrarono che nei tre quinti superiori del tenue, essa va diminuendo mentre cresce nei due quinti inferiori ed in ispecie nell'ultimo tratto dell'ileo, in relazione coll'ispessimento che ivi ha subito il contenuto intestinale e per la resistenza che deve vincere alla valvola ileocecale.

d). — *Fenomeni d' inibizione dallo stomaco sullo intestino.*

È noto come sia grande il numero dei fatti di arresto che si possono ottenere per via riflessa e, data la complessità dell'innervazione motoria dell'intestino, non potrà sembrare strano se, studiando la motilità di quest'organo, si presentino alcuni fenomeni che hanno tutta l'apparenza di veri e proprii fatti di inibizione.

Erano già noti alcuni fenomeni reflessi dallo intestino sullo stomaco ed è noto pure che la stimolazione del retto a stomaco pieno può provocare il vomito; ma, per quanto io sappia, non era noto il fenomeno inverso che io potei molte volte, e con mezzi svariati riprodurre.

Solo il *Rossbach* (21) ha fatto osservazioni analoghe, limitatamente al duodeno. Egli scrive: « deve esistere certamente un nesso nervoso tra l'innervazione dello stomaco e quella

del piloro e si può in linguaggio fisiologico così esprimere: gli eccitamenti prodotti dagli alimenti sulla mucosa dello stomaco producono anzitutto una più forte contrazione dei muscoli costrittori del piloro ed una inibizione dei movimenti dei muscoli duodenali; in seguito si ha rilasciamento dei muscoli del piloro ed eccitamento dei muscoli del duodeno ».

Casualmente notai che una irritazione anormale dello stomaco può inibire la peristalsi intestinale.

Esperienza III. — 15 gennaio 1901. Digiuna da ore 2,10'. Introduco la pallina nella fistola e l'affondo mm. 60: poi fisso la bestia sull'apparecchio. La pallina rimase ferma per ore 4,30' sebbene per le condizioni sperimentali nelle quali ci trovavamo dovesse presto salire. Sospeso l'esperimento e tolto l'animale dall'apparecchio, subito dopo vomitò parecchie volte e nelle sostanze così emesse era contenuto un grosso ciuffo di peli. Si seppe in seguito che la bestia, lasciata libera in cortile, aveva mangiato una pelle di coniglio.

Pensammo subito allora ad un fenomeno di arresto dello stomaco sull'intestino ed istituimmo una serie di esperimenti a questo scopo.

1° Introducemmo la pallina quando la bestia era digiuna da più di 12 ore e, quando quella ebbe percorso un discreto tratto d'intestino, somministrammo un pasto. Come bene si rileva dalla tabella seguente il movimento della pallina si arrestò e, di leggieri s'intende che, pure essendo il fenomeno costante, possa in condizioni fisiologiche avere durata affatto diversa. A questo proposito si noti che il tempo di aspetto consecutivo al pasto appare tanto più breve quanto è minore la strada percorsa dalla pallina prima del pasto.

Tabella V^a.

Numero della esperienza	DATA	Cammino percorso prima del pasto in mm.	Tempo di aspetto dopo il pasto in ore	Cammino totale in mm.
XLIII	11 Giugno 1901 ...	55	0.20'	212
L	29 Luglio » ...	45	0.25'	180
XXXVII	21 Maggio » ...	65	0.30'	225
XLV	17 Luglio » ...	144	0.50'	228
XLVI	18 Luglio » ...	235	0.70'	370

2° Il fenomeno si produce anche semplicemente ponendo il cibo dinanzi alla bestia ed impedendole di mangiarlo. In queste condizioni non mancò mai un arresto della peristalsi. Riproduco a questo proposito un esperimento.

Esperienza XXXIX. — 4 giugno 1901. Feci dure. Digiuna da ore 16. Alle 10,45′ introduco la pallina mm. 45.

10.50′ — 0
11.00′ — 3
11.10′ — 50 metto il cibo dinanzi.
11.20′ — 50 levo il cibo.
11.30′ — 60
11.40′ — 140 rimetto il cibo.
11.50′ — 140
12.00′ — 140
12.10′ — 140 levo il cibo.
12.20′ — 140
12.30′ — 140
12.40′ — 145
12.50′ — 145
13.00′ — 150
13.10′ — 165 somministro un pasto in gr. 300.
13.20′ — 165 arresto.
13.30′ — 165 »
13.40′ — 165 »
Si sospende l'esperimento.

Questo fenomeno richiama alla mente l'osservazione di *Claudio Bernard*, che cioè basta la vista e l'odore degli alimenti perchè la mucosa dello stomaco si copra di minutissime goccioline di succo gastrico.

3° In un altra serie di esperienze, allorchè la bestia era fissata nell'apparecchio *Cyon* e la pallina in movimento, introduceva nello stomaco la sonda gastrica. In questi casi ebbi egualmente un arresto del movimento della pallina: l'arresto durò tanto tempo quanto lasciai la sonda nello stomaco.

4° La semplice introduzione di liquidi caldi o freddi nello stomaco, in discreta quantità (100 a 150 cmc.) mi ha sempre dato un arresto della peristalsi.

Possiamo quindi concludere che verosimilmente la vista dell'alimento, l'introduzione di cibi e bevande nello stomaco è condizione per cui si produce arresto di movimento in tutto il tenue, e richiamando alla mente l'osservazione di *Claudio Bernard* si direbbe quasi che in questo momento, che precede

il pasto o che segue immediatamente l'introduzione di alimenti nello stomaco, ogni attività è rivolta esclusivamente alla preparazione dei succhi.

Infine dirò come questi fenomeni d'inibizione a me sembrino interessanti in quanto mostrano la possibilità di influire sulla motilità dell'intestino per mezzo di irritazioni portate sullo stomaco.

e). — *Inibizione della peristalsi per stimolazione meccanica dello intestino.*

Fin dal 1869 *Legros* et *Onimus* (4) avevano indubbiamente osservato alcuni fatti i quali attestano fenomeni di inibizione dello intestino per stimolazione dell'intestino stesso, e giova qui ricordare le loro parole: « Sembra affatto naturale di ammettere che una eccitazione diretta dello intestino produca una contrazione ed un aumento della tensione che si palesano nello stesso momento; ma se si fa un esame scrupoloso si vede che la contrazione è il fenomeno terminale. Esiste un fenomeno iniziale che può sfuggire e non fu ancora osservato, probabilmente a causa della sua istantaneità. Quando si eccita rapidamente sia la superficie mucosa dell'intestino, sia la sierosa, la tensione si abbassa rapidamente per riafforzarsi in seguito e diventare più forte che innanzi all'esperienza. Noi abbiamo ripetuta questa osservazione sia sull'intestino tenue, sia sul crasso, sia sullo stomaco ».

Colin e *Braam-Houckgeest* colla semplice ispezione hanno successivamente constatato che la peristalsi intestinale è sempre rappresentata da un'onda contrattile anelliforme preceduta da un'onda dilatatoria o di rilasciamento.

Nel 1899 il *Bayliss* e lo *Starling*, (35) in seguito ad una serie di esperienze fatte mediante uno speciale enterografo, formularono una legge che essi chiamarono « legge dell'intestino », ed il *Luciani* invece vorrebbe si chiamasse « legge della peristalsi », la quale così suona: « La stimolazione locale del

tubo intestinale produce eccitamento al disopra ed inibizione al di sotto del punto stimolato ».

Il *Fasola* (39) infine, nel gennaio di quest' anno, pubblicava una serie di ricerche che perfettamente confermano quelle del *Bayliss* e *Starling*.

Da tutti questi fatti si desume quindi che, allorquando un punto qualsiasi dell' intestino viene eccitato, si producono fenomeni di eccitamento e fenomeni di arresto, che dal manometro adoperato da *Legros* et *Onimus* potevano essere distinti solo nella successione di tempo in cui si producono, mentre dalle osservazioni dirette di *Bayliss* e *Starling* e di *Fasola* vengono nettamente distinti anche secondo il tratto d' intestino in cui si producono rispetto al punto stimolato.

Però, se tagliato l' intestino in un punto ne stimoliamo il moncone cefalico prevalgono fenomeni di accelerazione e, viceversa, stimolando il moncone caudale, prevalgono fenomeni di moderazione.

In questo senso, introducendo la pallina nell' apertura fistolosa del moncone discendente si produce in questo uno stimolo meccanico il quale darà in un primo tempo fenomeni prevalentemente moderatori.

A questo modo diamo al tempo d' aspetto il significato di un fenomeno di arresto, provocato dalla stimolazione meccanica per l' introduzione della pallina.

A) Ho cercato come variasse il periodo d' aspetto in rapporto ai pasti.

1° Quando si introduce la pallina, essendo lo stomaco vuoto, vale a dire ad una distanza di almeno 6 ore dal pasto, si ha un periodo di arresto sempre inferiore di 10 minuti primi. (Questo periodo di arresto viene per comodità indicato nelle tabelle con zero) (vedi tabella VI^a^).

Tabella VI^a.

Numero delle esperienze	DATA	Distanza dal pasto ore	Affondamento della pallina mm.	Tempo d'aspetto
V	20 Gennaio 1901	15.30'	50	0
XIV	8 Marzo 1901	17.30'	70	0
XXXVI	14 Maggio 1901.... ..	12.00	70	0
XXXVII	21 Maggio 1901.....	12.00	40	0
XXXIX	4 Giugno 1901	16.00	40	0
XLIII	11 Giugno 1901.....	16.00	40	0
XLV	17 Luglio 1901.....	17.00	70	0
XLVI	18 Luglio 1901.....	13.00	50	0
L	29 Luglio 1901.....	12.00	40	0
LXXXIII	11 Aprile 1902.....	27.00	40	0

2° Quando si introduce la pallina dopo un tempo inferiore alle 6 ore suddette dall'ultimo pasto, nel qual caso possiamo considerare l'animale a stomaco pieno, si ha un periodo di arresto sempre superiore ai 10 primi (vedi Tabella I).

3° Quando si somministra un pasto dopo che la pallina è stata introdotta ed ha percorso un certo tratto e tuttora si muove, si osserva la comparsa di un nuovo periodo di arresto il quale è molto lungo se la pallina ha precedentemente percorso un lungo tratto d'intestino; è più breve se il tratto percorso è meno lungo (vedi Tabella V).

4° Introducendo la pallina contemporaneamente al pasto, pochi minuti prima o pochi minuti dopo (vedi Tabella VII), il periodo di arresto fu vario: talvolta assai lungo, tal' altra assai breve. Pare sia un fatto che disturbi la normale funzionalità dell'intestino perchè il 57 % delle esperienze così eseguite ebbe un andamento anomalo.

Tabella VII^a.

Numero delle esperienze (¹)	DATA	Distanza dal pasto	Quantità del cibo in gr.	Affondamento della pallina in mm.	Tempo d'aspetto in ore	Durata della esperienza ore	Cammino percorso in mm.	Velocità in 10′		Qualità delle feci
								Media	Massima	
XLVII	22 Luglio 1901	0 05′	250	60	0 50′	5.00	270	13.5	82	Formate.
XLVIII	24 Luglio 1901	0.10′	300	50	0.20′	4.00	250	11.8	46	Formate.
XLIX	26 Luglio 1901	0.08′	300	50	0	3.40′	125	25.0	50	Molli.
LXVIII	9 Dicembre 1901.	0 10′	400	30	0.10′	3.25′	270	15.5	80	Formate.
LXXX	27 Marzo 1902.....	0.08′	400	40	0.60′	4.40′	110	7.3	25	Molli.
LXXXI	1 Aprile 1902.....	0.15′	400	30	0.50′	6.00	220	8.4	50	Molli.
LXXXII	4 Aprile 1902...	0.10′	450	30	0.20′	4.10′	180	11.2	52	Molli.

(¹) Le esperienze XLIX, LXXX, LXXXI, LXXXII, iniziate in ottime condizioni, ebbero un andamento abnorme.

B) Volli in seguito vedere come variasse il periodo di aspetto in rapporto alla strada fatta percorrere alla pallina nell' affondarla.

In generale si vede:

1° Dopo un pasto il tempo di aspetto, sempre maggiore che a digiuno, è tanto più lungo quanto più in alto spingiamo la pallina nel tratto fistoloso (vedi tabella VIII[a]).

Tabella VIII[a].

Numero della Esperienza	DATA	Distanza dal pasto in ore	Affondamento della pallina mm.	Tempo di aspetto in ore
L	24 Luglio 1901	0.10′	50	0.20′
XCVII	5 Aprile 1901	2.20′	50	0.30′
XV	13 Marzo 1901.....	2.45′	50	0.15′
XCVIII	16 Aprile 1901.....	3.40′	50	0.20′
X	16 Febbraio 1901	5.30′	50	0.15′
XLI	10 Giugno 1901.	6.00	45	0
XLVII	22 Luglio 1901.....	0.05′	70	0.50′
XCIX	25 Maggio 1901.....	2.15′	60	0.50′
VIII	11 Febbraio 1901.....	2.25′	70	0.50′
CI	20 Maggio 1901.....	3.45′	75	1.00
IX	13 Febbraio 1901... ...	4.40′	75	0.20′
XI	21 Febbraio 1901	6.00	65	0.20′

Perciò, nelle esperienze fatte a stomaco pieno cercammo di non affondare troppo la pallina per non produrre un troppo vivo eccitamento.

2° A stomaco vuoto, anche se si porta molto in basso la pallina non ne consegue alcuna variazione del tempo d' aspetto.

f). — *Temperatura e peristalsi.*

Sanders Ezn (7) e *Braam Houckgeest* (9), fatti accorti che l'aria ed il raffreddamento alterano il movimento delle intestina di animali a cui si sia aperto il ventre, per evitare la dispersione del calore immersero l'animale in una soluzione di cloruro di sodio a 38°.

Legros et *Onimus* (4) videro che l'iniezione di acqua fredda nelle intestina arresta i movimenti, mentre versando acqua calda sulle anse intestinali poste allo scoperto si attiva il movimento, se già v'era, vien provocato se prima non vi esisteva.

Horwat (10) (1873) sperimentando sopra conigli, cavie, cani, gatti e rane vide l'intestino di tali animali immobile alla temperatura da 0° a 19°, in movimento da 19° a 41°.

Il *Bernard* (5), ponendo intestina di coniglio prive di movimento in un vaso e facendovi scorrere aria calda, vedeva apparire in esse dei movimenti, prima ancora che la temperatura si rilevasse in un bulbo termometrico posto nel vaso.

Fubini e *Luzzati* (16) affermano che la temperatura di 40° può accelerare del doppio il movimento di un corpo estraneo introdotto nello intestino e che la temperatura di 4° può diminuire di molto e talora produrre l'arresto del corpo estraneo, che era spinto dalla attività muscolare nello intestino.

Rossbach (21), esperimentando sullo stomaco dei cani, trovò che un liquido freddo eccita le contrazioni dello stomaco, mentre un liquido ghiacciato le diminuisce; sovra di una donna, con ano preternaturale nella parte superiore del tenue egli studiò l'azione del freddo sui movimenti intestinali e giunse alle seguenti conclusioni:

1° Il freddo leggero non eccita i movimenti o solo leggermente; in tal caso la peristalsi è sempre inferiore a quella che normalmente si aveva.

2° Il freddo intenso aumenta la peristalsi egualmente solo in minimo grado.

3° L'acqua fresca bevuta eccita subito movimenti peristaltici vivaci.

Luderitz (22) vide che abbassando la temperatura di animali immersi in un bagno di cloruro di sodio si ottengono contrazioni rapide ed energiche dello intestino per irritazioni meccaniche, chimiche ed elettriche fino alla temperatura di 7°,6.

Bedki (27) esponeva i conigli all'aria aperta durante la stagione invernale. Quando la temperatura del retto si era abbassata fino al punto che egli voleva ottenere (la minima era di 27°,5), egli metteva l'animale in una soluzione di cloruro sodico ed apriva l'addome. Le intestina erano immobili.

Ducceschi (31) infine vide che i liquidi a 38°, 39° iniettati nello stomaco hanno effetto utile sui movimenti aumentandoli: al disopra di 39° ed al disotto di 37° l'azione è progressivamente sfavorevole avendosi abbassamento dell'energia di contrazione e disordine del loro ritmo. A 5° i movimenti cessano completamente in tutte le sezioni dello stomaco.

Oltre questi dati di ricerche sperimentali, altri ne abbiamo dovuti allo esperimento clinico. Così è noto che l'acqua fresca ingerita a stomaco vuoto eccita la peristalsi (*Lauder Brunton*). Il clistere freddo produce evacuazioni immediate (*Brunton*, *Husemann*). Eguale effetto producono i clisteri molto caldi. I più adunque affermano che il freddo diminuisce o arresta addirittura i movimenti intestinali; altri (*Rossbach*, *Lauder Brunton*, *Husemann*) insegnano che l'azione del freddo, in condizioni speciali, li rende più attivi.

Riguardo all'azione del caldo sulla peristalsi l'accordo è generale: esso la renderebbe più intensa.

Perciò intrapresi una serie di esperimenti ed esaminai l'azione del caldo e del freddo, facendo pervenire nell'intestino liquidi caldi o freddi per le due vie naturali: lo stomaco ed il retto.

1° Introduzione di liquidi caldi nello stomaco.

Esperienza XC. — 5 maggio 1902. Feci ben formate. Digiuna da 5,20'. Affondo la pallina nella fistola mm. 85. Quando essa si muove ed ha percorso mm. 40 introduco colla sonda gastrica nello stomaco cmc. 150 di H^2O a 38°. Tempo d'aspetto ore 0,15'. Cammino percorso mm. 190. Velocità media in 10' = mm. 8,8. Velocità massima in 10' = mm. 40.

Esperienza XCI. — 7 maggio 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 6.

Affondo la pallina mm. 40. Appena ha percorso mm. 20, introduco colla sonda nello stomaco cmc. 110 di H^2O a 45°. Tempo d'aspetto = ore 0,07. Cammino percorso mm. 120. Velocità media, in 10′ = mm. 7,5. Velocità massima in 10′ = mm. 45.

Esperienza XCII. — 11 maggio 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 6. Affondo la pallina mm. 40. Quando il piattino raggiunge l'altezza di mm. 55 introduco cmc. 100 di H^2O a 45°. Tempo d'aspetto = ore 0,10′. Velocità media in 10′ = mm. 8,5. Velocità massima in 10′ = mm. 35.

Se noi paragoniamo queste esperienze alle altre fatte a stomaco pieno, vediamo che la velocità media è diminuita e così pure la velocità massima. Il cammino percorso è pure notevolmente più corto.

2° Introduzione di liquidi caldi per la via del retto.

Esperienza XI. — 21 febbraio 1901. Feci ben formate. Distanza dal pasto ore 4,30′. Introduco la pallina mm. 60. Quando essa si muove e raggiunge l'altezza di mm. 55 faccio un enteroclisi di acqua comune alla temperatura di 38°. Tempo d'aspetto in ore = 0,10′. Velocità media in 10′ = mm. 13,3. Velocità massima in 10′ = mm. 79. Cammino percorso mm. 246.

Esperienza XCIV. — 26 maggio 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 7. Introduco la pallina mm. 40. Quando ha percorso mm. 40 faccio un enteroclisi di cmc. 100 di H^2O a 38°. Tempo d'aspetto in ore = 0,10′. Velocità media in 10′ = mm. 10,5. Velocità massima in 10′ = mm. 25. Cammino percorso = mm. 100.

In entrambe queste esperienze la velocità è aumentata. Si badi però di confrontare la prima con le esperienze a stomaco pieno, la seconda con quelle a stomaco vuoto.

3° Introduzione di liquidi freddi per la via dello stomaco.

Poichè gli autori sono concordi sul fatto che l'azione del freddo intenso sullo stomaco diminuisce od arresta i movimenti intestinali (*Rosbàch*, *Ducceschi*) ho fatto una sola esperienza che collima perfettamente con quelle citate.

Esperienza XCIII. — 21 maggio 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 5,25′. Introdotta la pallina, quando essa ha già percorso mm. 29 introduco cmc. 100 di H^2O a 10°. Tempo d'aspetto 0,05′. Velocità media in 10′ = mm. 5. Velocità massima = mm. 20. Cammino percorso = mm. 110.

La velocità media è diminuita: il cammino percorso è pure inferiore a quello che si riscontra a stomaco pieno.

4° Introduzione di liquidi freddi per la via del retto.

Esperienza IX. — 13 febbraio 1901. Feci ben formate. Digiuna da ore 4,40′. Affondo la pallina mm. 75. Quando si muove ed ha percorso mm. 10 faccio un enteroclisi di cmc. 100 di H^2O a 4°. Velocità media in 10′ = 16,2. Velocità massima = mm. 38. Cammino percorso mm. 138. La pallina fu emessa dopo ore 4,50′ con feci molli.

Esperienza X. — 16 febbraio 1901. Feci ben formate. Digiuna da ore

0,25'. Affondo la pallina mm. 50. Quando si muove ed ha percorso mm. 22 pratico un enteroclisi di cmc. 100 di acqua a 4°. Velocità media in 10' = mm. 16. Velocità massima = mm. 40. Cammino percorso mm. 130. La pallina fu emessa nella notte del 16 con feci semimolli.

Da questi esperimenti parmi di poter concludere:

1° Liquidi caldi o freddi introdotti nello stomaco non aumentano affatto la peristalsi, che all'opposto subisce una moderazione;

2° Liquidi caldi o freddi iniettati per la via del retto accrescono i movimenti peristaltici;

3° L'aumento dei movimenti dato dalla introduzione di liquidi freddi nel retto è maggiore di quello ottenuto colla iniezione di liquidi caldi.

g). — *Motilità dell' intestino con svariate alimentazioni.*

1° *Pane e brodo.* — In tutte le esperienze raccolte nella tabella prima ed eseguite a poca distanza dal pasto, il cibo consistette in pane di 2ª qualità e brodo a parti eguali.

La velocità media fu per la 2ª cagnetta, di cui mi servii per gli esperimenti con alimentazione variata, di mm. 10,9 ogni 10 minuti primi.

2° *Carne.* — Somministrai alla cagnetta pasti composti di 150 gr. di carne di cavallo e gr. 200 di brodo. A distanze variabili da ore 1,45' ad ore 3 dalla introduzione dell'alimento affondavo la pallina nella fistola. Riassumo qui brevemente i dati ottenuti

Esperienza LXXXIV. — 16 aprile 1902. Velocità media in 10' = mm. 8,6. Cammino percorso = mm. 90.

Esperienza LXXXV. — 18 aprile 1902. Velocità media in 10' = mm. 13,5. Cammino percorso = mm. 95.

Esperienza LXXXVII. — 24 aprile 1902. Velocità media in 10' = mm. 15,8. Cammino percorso = mm. 98.

Le tre esperienze si accordano abbastanza bene fra di loro. La media delle velocità medie è = mm. 12,6 in dieci primi.

Essa è superiore a quella che si ottiene nutrendo l'animale con pane e brodo. Ma quel che reca sorpresa si è che, nonostante la più attiva peristalsi, il cammino percorso è breve assai, tanto breve che mai l'avevo ottenuto in condizioni fisiologiche. E si noti che, dubitando dei risultati della prima esperienza, le due seguenti furono condotte colla massima scrupolosità. Ma la cosa si spiega chiaramente considerando che per il poco volume occupato dallo alimento carneo nello intestino, questo possa ripiegarsi e disporsi con numerose volute quasi come accade a stomaco digiuno.

3° *Latte.* — L'introduzione di quantità eccessive di latte è causa di uno stato abnorme dell'intestino.

Esperienza XCV. — 7 giugno 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 6, 30'. Alle 14, 30' somministro cmc. 50 di latte di pecora, pari a gr. 5 per klg. di animale. Alle 15, 35' affondo la pallina mm. 40. Velocità media in 10' = mm. 8, 3. Velocità massima in 10' = mm. 80. Cammino percorso mm. 120. Feci durissime.

Esperienza XCVI. — 9 giugno 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 7, 00. Alle 14, 30' somministro cmc. 50 di latte. Alle 15, 30' affondo la pallina mm. 40. Velocità media in 10' = mm. 11. 3. Velocità massima in 10' = mm. 45. Cammino percorso mm. 125. Feci durissime. La velocità media non appare alterata, essendo = mm. 9, 8. In altre esperienze feci uso della dieta mista, sostituendo nelle zuppe solite con cui alimentavo la bestia, il latte al brodo.

Esperienza LXXXVI. — 20 aprile 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 3, 20' : il pasto si componeva di gr. 200 di latte e gr. 25 di pane. Velocità media in 10' = mm. 9, 2. Velocità massima = mm. 50. Cammino percorso = mm. 115. Feci mollissime.

Esperienza LXXXVIII. — 30 aprile 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 2, 30' : il pasto si componeva di gr. 150 di latte e 50 di pane. Velocità media in 10' = mm. 7, 3. Velocità massima = mm. 30. Cammino percorso = mm. 130. Feci molli.

Esperienza LXXXIX. — 2 maggio 1902. Feci ben formate. Digiuna da ore 2, 40' : il pasto si componeva di gr. 200 di latte e gr. 100 di pane. Velocità media in 10' = mm. 6, 5. Velocità massima = mm. 50. Cammino percorso = mm. 150. Feci molli.

4° *Pan nero e crusca.* — È noto come la cellulosa, sebbene intaccata e digerita in parte dai succhi dell'intestino, non possa venire annoverata tra gli alimenti dell'uomo ed abbia tutt'al

più ufficio di agire come stimolo meccanico, atto a promuovere la peristalsi (*Bunge*). Il *Knierem* dimostrò che indiscutibilmente la cellulosa è necessaria alla normale funzione del tubo intestinale degli erbivori. Il *Bunge* ritiene che i carnivori possano farne a meno. In terapia è e fu largamente usata nella cura della stitichezza abituale.

Volendo fare alcune esperienze con alimenti, i quali contenessero un'abbondante quantità di cellulosa, prescelsi all'uopo il pan nero e la crusca schietta. Le esperienze, eseguite mentre l'intestino era in ottime condizioni, riuscirono dimostrative.

Esperienza LXVII. — 6 dicembre 1901. Feci ben formate. Somministrai gr. 150 di crusca impastata con eguale quantità di acqua. Dopo 5 ore introdussi la pallina. La velocità media in 10′ fu = mm. 14: il cammino percorso = mm. 295. Le feci emesse dopo l'esperienza erano ben formate.

Esperienza LXVIII. — 9 dicembre 1901. Feci ben formate. Do alla bestia una zuppa di gr. 200 di pane nero e di gr. 200 di acqua. Dopo dieci minuti affondo la pallina. Velocità media = mm. 15, 5 in 10′. Cammino percorso = mm. 270. Feci ben formate.

Esperienza LXIX. — 17 dicembre 1901. Feci ben formate. Essendo la cagnetta a stomaco vuoto, introduco la pallina nella fistola. Quando essa già si muove, somministro un pasto di gr. 250 di crusca e 200 di acqua. Velocità media in 10′ = mm. 11, 2. Cammino percorso = mm. 250. Feci ben formate. Media delle velocità medie = mm. 13, 5.

Anche da queste esperienze si vede che la cellulosa aumenta la peristalsi intestinale.

IV. — Peristalsi in condizioni patologiche.

Dal campo fisiologico non si passa d'un tratto nel patologico; vi si giunge passando per gradi diversi e direi quasi che fra i due stati ne esiste uno intermedio che ha un po' i caratteri dell'uno e dell'altro. Così certe esperienze non possono addirittura porsi tra le patologiche ma neppure sono fisiologiche; la corsa della pallina è interrotta qua e là, le feci non sono ben formate, i fenomeni di arresto subiscono lievi alterazioni, la velocità media è in debole grado diminuita.

Tabella IX^a

Numero d'ordine	Numero della Esperienza	DATA	Distanza dal pasto in ore	Quantità del cibo in gr.	Affondamento della pallina in mm.	Tempo di aspetto in ore	Durata in ore	Cammino percorso in mm.	Velocità in 10′		Emissione della pallina dopo ore
									Media	Massima	
1	XII	23 Febbraio 1901	3.45′	300	35	0	4.20′	207	13.1	30	31 a 34
2	XIII	26 Febbraio 1901	5.00	300	50	0.20′	3.30′	170	11.2	40	17.00
3	XVIII	21 Marzo 1901	4.25′	300	50	0.60′	4 00	245	19.2	65	4 a 16
4	XXI	1 Aprile 1901	4.00	300	30	0.10′	3.30′	205	16.0	55	24.00
5	XLIV	14 Giugno 1901	1.00	300	50	0.20′	4 35′	260	13.7	50	17.00
6	LXXVII	3 Febbraio 1902	5.00	250	50	0.20′	4 00	170	15.4	95	29.00
7	LXXIX	17 Febbraio 1902	5.00	250	40	0 30′	4.40′	150	5.5	....	77.00
8	LXXX	27 Marzo 1902	0.08′	400	40	0.60′	4.40′	110	7.3	25	54.00
9	LXXXI	1 Aprile 1902	0.15′	400	30	0.50′	6.00	220	8.4	50	6.00
10	XLIX	26 Luglio 1901	0.08′	300	50	0	3.40′	125	25.00	50	13 a 24
11	XL	5 Giugno 1901	0.40′	300	40	0	4.00	150	50.00	125	26.00
12	XLI	8 Giugno 1901	4.08′	300	50	2.00′	2.00	....	....	....	31 a 42
13	LI	31 Luglio 1901	14.00	300	45	3.10′	3.10′	....	....	...	?
14	III	14 Gennaio 1901	2.10′	?	60	4.30′	4.30′	....	....	....	.....

Alterazioni della velocità media. — La velocità media subisce notevoli variazioni. Infatti, mentre talora è aumentata, il cammino percorso non subisce alterazioni notevoli (esp. 1 a 6); tal' altra è intensamente accresciuta, perfino quintuplicata (esp. 49 e 50), ma il cammino percorso è assai breve. Probabilmente in questo caso la pallina, per la straordinaria attività della peristalsi e per lo stato di vacuità dello intestino, raggiunge assai presto i crassi. Infine qualche volta la velocità media è inferiore alla norma (esp 79, 80, 81).

La maggior parte di queste esperienze conferma quanto si disse nel capitolo precedente: anche negli stati patologici la peristalsi è più intensa quanto più ci troviamo in alto nel tenue e va di mano in mano diminuendo, quanto più scendiamo in basso. Basteranno, per dimostrare ciò all'evidenza, gli esperimenti raccolti nella seguente tabella, avvertendo che per brevità tralasciamo di disporre così tutti gli altri esperimenti della Tabella IX^a^.

Tabella X^a^.

Numero d'ordine	DATA	Distanza dal pasto	Tempo di aspetto	Velocità media in 10'				
				1ª ora	2ª ora	3ª ora	4ª ora	5ª ora
1	23 Febbraio 1901	3 45'	0	22.6	7.8	5	0	0
2	26 Febbraio 1901	5.00	40'	16.5	8.8	3.3		
5	21 Marzo 1901	4.25'	60'	30.0	9.1	1.6	0	0
3	1 Aprile 1901	3.55'	10'	30.8	3.5	0	0	
4	14 Giugno 1901	1.00	20'	21.6	6.6	10	3.3	0

Alterazione dei fenomeni d'inibizione. — Il fenomeno d'inibizione dello stomaco sull'intestino per alimento incongruo può essere straordinariamente lungo e noi già lo vedemmo (esp. III). Il tempo d'aspettò, a cui già demmo il significato di fenomeno d'arresto, può essere abolito (esp. 12, 40, 49) ma può avere durata eccezionale (esp. 51) a stomaco vuoto.

V. — Peristalsi intestinale per azione dei purganti.

Fra i purganti scelsi quelli che possono chiamarsi prototipi dei singoli gruppi; dei salini il solfato di magnesio, dei miocinetici la senna, dei drastici l'olio di croton.

1° *Solfato di magnesio.*—Esiste un'assai ricca letteratura (44) sui purganti salini, che io non posso qui per brevità riassumere. Trovasi completamente raccolta nel lavoro del Dott. *Iacoangeli*, citato nell'indice bibliografico.

Introducevo il purgante direttamente nella fistola a poca distanza dai pasti, quando cioè ritenevo che nel tenue ancora esistesse un abbondante contenuto. La quantità iniettata era di grammi uno per klg. di cane.

Tabella XI^a.

Numero della esperienza	DATA	Distanza dal pasto in ore	Quantità del cibo in gr.	Affondamento della pallina in mm.	Tempo di aspetto in ore	Veloc. in 10' media mm.	Veloc. in 10' mass. mm.	Qualità delle feci
VII	6 Febbraio 1901	1.35'	300	60	1.00	8.5	41	Molli
XXX	2 Maggio 1901	3.10'	200	50	0 30'	7.7	45	Molli
XXXII	6 Maggio 1901	2.00	200	50	0.10'	8.6	40	Molli

La velocità media è diminuita. Durante tutto il tempo della esperienza scola dalla fistola un abbondantissimo liquido sieroso, limpido, poco denso, che dà un'intensa reazione di solfati.

Mi paiono degni di nota i seguenti fatti ripetutamente osservati:

Esperienza VII. — La bestia è in ottime condizioni. Cinquanta minuti dacchè si è iniettato il $Mg^2 SO^4$ e si è posta la bestia sull'apparecchio, emette feci liquide.

Esperienza XXX. — Un momento prima di iniziare l'esperimento emette feci ben formate. Alle 12, 40' inietto il sale purgativo nella fistola: alle 12, 44' emette feci diarroiche.

Esperienza XXXII. — Le condizioni dell'animale sono ottime. Dieci minuti dopo l'iniezione del purgante emette feci semi-solide fra una sierosità filante.

2° *Sena alexandrina.* — È opinione comune basata sugli esperimenti di *Clopatt*, *Thiry*, *Hess* ed altri che la sena aumenti la peristaltica intestinale stimolando direttamente la tonaca muscolare dello intestino. Il principio delle foglie di sena sarebbe secondo il *Tschirch* (32) l'ossimetilantrachinone. Introducevo nella fistola cmc. 10 di un infuso fatto con gr. dieci di foglie di sena e cmc. 100 di acqua distillata.

Tabella XII^a.

Numero della esperienza	DATA	Distanza dal pasto in ore	Quantità del cibo in gr.	Profondità a cui fu affondata la pallina in mm.	Tempo di aspetto in ore	Velocità media in 10' mm.	Qualità delle feci
XVI	16 Marzo 1901	4.05'	200	50	0	24.1	Formate
XXXVIII	24 Maggio 1901	4.00	200	50	0	20.2	Formate
CII	29 Maggio 1901	18.00	300	40	0.10'	17.00	Molli

Le esperienze 16 e 38 furono eseguite sulla 2^a cagnetta: la esperienza 102 sulla 3^a. La velocità media per azione della sena è fortemente aumentata, sia a stomaco pieno, sia a stomaco vuoto. Dalla fistola durante l'esperimento scola scarsissima quantità di un liqido nerastro: talora nulla.

3° *Olio di croton.* — L'olio di croton è un drastico assai energico che cagiona intensa congestione del tubo intestinale.

Io eseguii con esso due esperimenti e lo introdussi una volta, come già i due precedenti purganti, nella fistola; un altra volta invece, lo introdussi nello stomaco. Riassumo brevemente i dati delle esperienze.

Esperienza II. — 11 gennaio 1900. Distanza dal pasto ore 4, 35'. Unsi la pallina con olio di croton. Velocità media in 10' = mm. 15. Feci molli.

Esperienza LVII. — 10 agosto 1901. Distanza dal pasto ore 4, 00. Introduco nello stomaco millig. 2 di olio di croton in cmc. 20 di acqua. Dopo ore 0, 30' affondo la pallina nella fistola. Velocità media = mm. 17, 5. Feci molli.

Da queste esperienze pure si vede che l'olio di croton aumenta la peristaltica intestinale.

VI. — Nell' intestino tenue non si hanno contrazioni antiperistaltiche

Legros et *Onimus* (4) ammisero la presenza di movimenti antiperistaltici. Per dimostrarli, sparato l'addome di un cane cloroformizzato, presero un'ansa del tenue e vi praticarono una legatura al di sopra ed al di sotto della quale iniettarono un po' di nero fumo sospeso nell'olio. Suturarono in seguito la parete addominale e all'indomani, sacrificato l'animale, trovarono il nero fumo da una parte nel grosso intestino, dall'altra nello stomaco. Per dimostrare i movimenti antiperistaltici del colon introdussero nel retto una pera di cautciù e stimolarono leggermente l'ano colle barbe di una piuma. Videro allora determinarsi una contrazione ascendente che poteva venir registrata coi soliti apparecchi scriventi.

Brakel ed *Engelmann* (8) credettero esistessero i movimenti antiperistaltici pel fatto che, stimolando con una pinza un punto del tenue, compariva una contrazione che da esso si diffondeva in alto verso il piloro ed in basso verso la valvola ileo-cecale; con una rapidità di 30-40 mm. al secondo.

Nothnagel (13) *Höel* (17) trovarono che, scoperto l'intestino ed applicato un cristallino di cloruro di sodio, si ottiene una contrazione che si propaga in egual modo in su ed in giù del punto stimolato. *Horwat* vide che le correnti indotte producono onde contrattili in ambedue le direzioni; *Luderitz* (25) confermò il fatto.

Fubini (16) nelle esperienze eseguite col metodo più innanzi citato riscontrò un movimento sempre progressivo nello intestino; pur tuttavia ammise i movimenti antiperistaltici

perchè « chiunque apra in condizioni favorevoli la cavità addominale di cane, o di coniglio, o di porcellino d' India, osserva facilmente un movimento di va e vieni dello intestino ed a traverso le pareti sottili di questo viscere vede boli di sostanze fecali essere spinti in su ed in giù per buon tratto di ansa intestinale e dare facile dimostrazione del movimento antiperistaltico ». Ma a questa osservazione del *Fubini* si può facilmente opporre che, se consideriamo i movimenti dello intestino ricoperto o no dalla parete addominale siamo in condizioni ben diverse. Poichè a pareti addominali integre la contrazione intestinale si trasmette egualmente in tutti i punti sempre indentica a sè stessa, mentre, mettendo l'intestino allo scoperto, gli squilibrii di pressione possono provocare movimenti retrogradi indipendentemente da qualsiasi contrazione antiperislatica.

Mall, *Kirstein* (23) (1889), *Kaudes* (26) (1893), *Sabbatani* e *Fasola* (36) (1899-1900), *Müsham* (37) (1900), *Enderlen* ed *Hesse* (38) (1901), *Prutz* (41) (1902) capovolsero tratti più o meno lunghi d'intestino tenue di cane e, pur avendo osservato costantemente gli stessi risultati, tuttavia quasi tutti ammettono che la sopravvivenza, benchè corta, di alcuni animali indichi un adattamento limitato al movimento antiperistaltico nell'ansa capovolta, mentre in realtà l'esito fatalmente letale in tutti questi animali dimostra che un adattamento vero e proprio non è possibile e la grande dilatazione che si ha in corrispondenza della sutura superiore fa fede del funzionamento contrario dell' ansa. *Sabbatani* e *Fasola* videro che nelle anse capovolte e per brevi tratti i liquidi passano come nei vasi comunicanti, mentre i corpi solidi anche molto piccoli che l'animale va ingerendo casualmente, giunti al tratto capovolto si arrestano perchè il tratto stesso si oppone validamente al loro passaggio. Da questo fatto trassero la conclusione che i liquidi possono scorrere a ritroso per tratti più o meno lunghi d' intestino, bastando per la circolazione di essi i movimenti pendolari ed il rimescolamento delle anse tra di loro Quasi contemporaneamente il *Grützner* (34), avendo in alcune esperienze osservato che in circostanze favorevoli i liquidi con-

tenuti nello intestino tenue e nel crasso possono scorrere a ritroso per tratti più o meno lunghi, ammise invece erroneamente l'esistenza di movimenti antiperistaltici.

Senonchè *Sabbatani* e *Fasola* (36) dimostrarono ancora con molteplici tecniche operative (anse parallele a direzione inversa, diverticoli ciechi, fistole ascendenti e discendenti) che in nessun caso mai si producono nel tenue movimenti antiperistaltici.

In perfetto accordo coi loro risultati, già *Bayliss* e *Starling* (35) (1899) erano con una tecnica diversa pervenuti alla identica conclusione. Tagliata ai due estremi un'ansa intestinale, che lasciarono fissa al suo mesentere, introdussero nell'apertura superiore un bolo costituito da un fiocco di cotone spalmato di vasellina. Osservarono una contrazione del tratto immediatamente sovrastante ad esso, la quale andava crescendo fino a diventare una contrazione tonica, capace di spingere il bolo stesso; viceversa tentando di introdurlo nello estremo inferiore non riuscivano nello intento, o, se l'affondavano, veniva immediatamente respinto. In seguito a questa e ad altre esperienze, di cui più su dicemmo, formularono la legge della peristalsi la quale non solo conferma le osservazioni fatte da *Colin* e *Braam-Houckgeest* colla semplice ispezione, ma permette di dare una nuova interpretazione agli esperimenti di *Brakel* ed *Engelmann*, di *Nothnagel*, *Flöel*, *Horwat*, *Luderitz*. Infatti il *Fasola* (39) riferì ultimamente (gennaio 1902) alcune esperienze le quali ripetono quelle dei citati autori e trovò che lo stimolo locale, unico, elettrico o meccanico o chimico produce acceleramento al di sopra ed inibizione al disotto del punto stimolato confermando in questo pienamente la legge di *Bayliss* e *Starling*. Ma un fattore nuovo egli mette in luce, la successione cronologica dell'eccitamento e della inibizione, poichè lo eccitamento a monte dello stimolo avviene solo in un primo tempo, dopo il quale la eccitazione si propaga anche al disotto.

In opposizione a questi fatti starebbe una sola esperienza di *Enderlen* ed *Hesse* (38) i quali, stimolata elettricamente un'ansa intestinale capovolta, videro che essa reagiva con movimenti diretti verso l'estremo anale. Da questo fatto trassero la

conclusione che nell' intestino è veramente possibile la contrazione antiperistaltica. Ma probabilmente essi caddero in quell' errore d' interpretazione che aveva sviato i precedenti osservatori.

Infine il *Fasola* (39), occluso artificialmente il tenue in 7 cani, potè in 6 di essi ottenere il vomito fecaloide dimostrando però chiaramente che non poteva essere attribuito in alcun modo alle contrazioni antiperistaltiche.

Pure nel gennaio di quest' anno *W. B. Cannon* (40) pubblicò un lavoro intorno a ricerche sulla peristalsi intestinale fatte coi saggi *Röntgen*. L' animale scelto da lui fu il gatto. Affine di rendere visibili attraverso lo schermo fluorescente i movimenti dello intestino, aggiungeva al cibo del sottonitrato di bismuto in proporzione variabile dal 10 al 33 %. Egli non osservò mai nel tenue movimenti antiperistaltici i quali all' opposto sarebbero movimenti abituali del cieco, del colon ascendente e del trasverso.

Ora io, solo in tre esperienze fatte sulla 3ª cagnetta, constatai un ritorno indietro del piattino ed è interessante osservare che il fatto potrebbe venire attribuito ad un movimento antiperistaltico. Ma se a questi casi si vuol dare un tale significato, bisogna dire che i movimenti suddetti compaiono ben di rado, tanto di rado che si può quasi dubitare di un errore d' osservazione.

Riproduco qui le tre esperienze.

Esperienza XCVII. — 5 aprile 1901. Feci ben formate. Digiuna da ore 2,20'. Affondo la pallina nella fistola mm. 60.

	11.55'	0		13.35'	90	15.15'	156
	12.05'	0		13.45'	92	15.25'	160
	12.15'	0		13.55'	160	15.35'	155
	12.25'	0	B	14 05'	150	15.45'	155
	12.35'	12		14.15'	135	15.55'	155
	12.45'	90	C	14 25'	125	16.05'	160
	12 55'	90		14.35'	128	16.15'	158
A	13.05'	80		14.45'	129	16.25'	160
	13.15'	82		14.55'	137	16.35'	155
	13.25'	84		15 05'	145	16.45'	158

Nei tratti segnati A, B, C, si nota un chiaro andamento refluo del piattino.

Esperienza CI. — 25 maggio 1901. Feci ben formate. Digiuna da ore 2, 25′. Affondo la pallina nella fistola mm. 60.

12.05′	0		13.55′	70	15.45′	130
12.15′	0		14.05′	135	15.55′	145
12.25′	0		14.15′	130	16.05′	155
12.35′	0	A′	14.25′	125	16.15′	185
12.45′	0		14.35′	120	16.25′	185
12.55′	0		14.45′	110	16.35′	195
13.05′	9		14.55′	115	16.45′	195
13.15′	15		15.05′	115	16.55′	190
13.25′	45		15.15′	120	17.05′	190
13.35′	55		15.25′	115		
13 45′	61		15 35′	120		

Anche qui si nota un andamento retrogrado del piattino in A′.

Esperienza CV. — 21 giugno 1901. Feci ben formate. Digiuna da ore 18, 00. Affondo la pallina mm. 50.

13.30′	0		14.50′	85	16.10′	195
13.40′	5	B′	15.00	90	16.20′	180
13.50′	5		15.10′	105	16.30′	180
14.00	30		15.20′	125	16.40′	180
14.10′	35		15.30′	150	16.50′	180
14.20′	35		15.40′	150	17 00	185
14.30′	55		15.50′	180	17.10′	185
14.40′	60		16.00	182	17.20′	185

È bene netta anche in questo caso la discesa del piattino in B′.

Ora noi possiamo spiegarci benissimo questi fatti rarissimi.

Cominciamo col far notare che le esperienze riferite furono eseguite sulla 3ª cagnetta, nella quale il T distava soli 16 centimetri dalla valvola ileo-cecale. Ora, tenendo presente il fatto che il filo si dispone lungo la via più breve, mi pare fuor di dubbio che la pallina sempre, ad eccezione del tratto segnato con A nella esperienza XCVII, si trovasse nel crasso, nel quale si potrebbe realmente, giusta le recenti ricerche di *Cannon*, prodursi movimenti antiperistaltici; seppure non si trattava di un fenomeno di scivolamento, dovuto al fatto che la

pallina, modellata su un diametro corrispondente a quello del tenue, abbia potuto scorrere lungo le pareti spalmate di muco di un tubo più largo, quale è il crasso. Non dobbiamo a questo proposito dimenticare che la pallina vien tratta in basso da un peso costante di gr. 3,35.

Riguardo all'unico movimento retrogrado del piattino avvenuto mentre la pallina si trovava nel tenue (Esperienza 97, tratto A) ricorderò anzitutto che il tubo intestinale gode del potere di allungarsi e di accorciarsi. È chiaro che, se il tratto che sta al disopra della pallina si allunga, il filo subisce una trazione ed il piattino viene trascinato in alto, mentre all'opposto discenderà se l'intestino si accorcia. D'altra parte non è illogico pensare un accorciamento quando l'intestino è vuoto al di sopra della pallina, ed io vidi i movimenti di discesa tener sempre dietro ad una brusca salita.

In secondo luogo possono talvolta gli spostamenti delle anse determinare una breve discesa del piattino in quanto, se un'ansa prima disposta ad angolo si dispone lungo una linea retta, il piattino discenderà.

In seguito a tutte queste considerazioni parmi di potere affermare che non esistono nel tenue movimenti antiperistaltici.

VII. — Conclusioni.

1° Nell'intestino tenue la direzione del movimento è sempre peristaltica: non vi esistono mai contrazioni antiperistaltiche.

2° L'andamento della peristalsi è nei tratti superiori del tenue più rapido che nei tratti inferiori, sia in condizioni fisiologiche, sia in condizioni patologiche; nel crasso il movimento diviene lentissimo.

3° La velocità del movimento varia a seconda della natura dell'alimentazione.

4° L'introduzione di alimenti nello stomaco, l'eccitamento del retto e dello intestino tenue sono condizioni che provocano fenomeni di arresto sulla peristalsi intestinale.

Luglio 1902.

Bibliografia.

Oltre i trattati di Luciani, Albertoni e Stefani, Landois, Colin, Hermann, Beaunis, Bunge, Bottazzi di Fisiologia e Chimica fisiologica, di Lauder Brunton, Nothnagel e Rossbach, Binz, Bernatzick, Husemann, Fubini, Giacosa di Farmacologia e Materia Medica, consulta le seguenti opere:

(1). — 1775. Haller, Elementa Physiologiae corporis humani.

(2). — 1858. Busch, Beitrag zur Physiol. der Verdauungsorgane. (Virchow's Arch.).

(3). — 1859. Moleschott, Physiologie der Nahrungsmittel, pag. 75 (citato da Fubini).

(4). — 1869. Legros et Onimus, Recherches expérimentales sur les mouvements de l'intestin. (Journal de l'Anat. et de la Physiol. Tom. VI, p. 36).

(5). — 1869. Bernard, Leçon sur la chaleur (citato da Fubini).

(6). — 1870. Radziejewski, Zur physiologischen Wirkung der Abführmittel. (Farmac. Skizze. Reichert u. Du Bois. — Reymond's Archiv, p. 1, 1870).

(7). — 1871. Sanders-Ezn, Methode t. ond. der peristal. Bewegungen van het Darmkanaal. (Nell'Jahresbericht von Virchow und Hirsch 1871 (citato da Fubini).

(8). — 1871. Engelmann und Brakel, Ueber die peristaltische Bewegung. (Pflüger's Arch., Bd. IV).

(9). — 1872. Braam-Houckgeest, Pflüger's Archiv, Bd. VI; id. Bd. VIII. (citato da Luciani, Beaunis, ecc.).

(10). — 1873. Horwat, Zur Physiologie der Darmbewegungen. (Centralblatt f. d. med. Wissenschaften, 1873 (citato da Fubini).

(11). — 1873. Czerny und Latschenberger, Physiologische Untersuchungen über die Verdauung und Resorption im Dickdarme des Menschen. (Virchow's Archiv, 1874, Bd. LIX).

(12). — 1875. Markwald, Ueber Verdauung und Resorption im Dickdarme des Menschen. Virchow's Arch. Bd. LXIV.

(13). — 1882. Nothnagel, Exper. Unt. üb. die Darmbewegungen. (Zeit. für. kl. Med., Bd. IV).

—— Zur chemischen Reizung der glatten Muskeln; zugleich ein Beitrag zur Physiologie des Darmes. (Arch. f. pathol. Anat. und Physiol., Bd. LXXXVIII, H. 1).

(14). — 1882. G. Salvioli, Nuovo metodo per lo studio delle funzioni dello intestino tenue. (Archivio per le scienze mediche, Volume V, pag. 396, Du Bois Reymond's Arch., 1880).

(15) — 1882. Fubini, Influenza delle correnti elettriche d'induzione, del cloruro di sodio e del laudano liquido del Sydenham sulla velocità di movimento dell'intestino tenue. (Giornale della R. Acc. delle Scienze di Torino, anno XLV, pag. 566).

(16). — 1883. Fubini e Luzzati, Sopra alcune esperienze riguardanti la fisiologia dell'intestino. Anno XLVI, pag. 565.

(17). — 1884. Flöel, Die Wirkung der Kalium — und Natriumsälze über die glatte Musculatur verschiedener Thiere. (Pflüger's Archiv, Vol. XXXV, pag. 160).

(18). — 1885. Rossbach, Verhandlungen des Congresses für innere Medicin. (Vierter Congress zu Wiesbaden, Bd. 8-11).

(19). — 1886. Fubini, Influenza della paura sui movimenti intestinali. (Annali Universali di Medicina, Vol. 277).

(20). — 1887 Hess J., Vers. üb. die peristal. Bewegung ecc.). (D. Arch. f. kl. Med., t. XL).

(21). — 1889, Rossbach, Bewegungen des Magens, Pylorus und Duodenum. (D. Arch. f. Klin. Med., XLVI, n. 296). — Beobachtungen über die Darmbewegungen des Menschen. (D. Arch. f. Klin. Med., XLVI, H. 322).

(22). — 1889. Luderitz, Exp. Untersuchungen über das Verhalten der Darmbewegungen bei herabgesetzter Körertemperatur. (Archiv. f. pathol. Anat., Bd. CXVI).

(23). — 1889. Kirstein, Deutsche med. Wochenschrift.

(24). — 1890. Brand und Tappeiner, Versuche über Peristaltik nach Abführmitteln. (Arch. f. experim. Pathol. und Pharmac., Bd. XXVI).

(25). — 1891. Luderitz, Ueber die Wirkung des constanten Stromes auf die Darmmusculatur. (Arch. f. d. gesammte Physiol., XLVIII).

(26). — 1893. Kandes, Ein Beitrag zur Lehre von der Darmperistaltik. (Centr. f. Physiol., Bd. VII).

(27). 1893. Arpad Bedki, Recherches sur la pathologie des mouvements intestinaux. (Ungarisches Arch. der Medizin, Bd. I. Da un sunto dello Sperimentale, anno XLVII).

(28). — 1894. De Filippi, Ricerche sul ricambio materiale di cani privati dello stomaco e di lunghi tratti dell'intestino tenue. Bologna, tipografia Gamberini e Parmeggiani.

(29). — 1896. Monari U. Ricerche sperimentali sul limite di asportazione dello stomaco e dello intestino tenue del cane. Bologna, tip. Regia.

(30). — 1986. Ruggi, Storia relativa ad un fanciullo, ecc. (Policlinico, Vol. III, C, fascicolo II).

(31). — 1897. Ducceschi, Sur les fonction motrices de l'estomac. (Archiv. It. de Biologie, T. XXVII, fasc. I; Archivio per le Scienze mediche, Vol. XXI, fasc. II).

(32). — 1898. Thirsch, Apotheker Zeitung, N. 52 (Da una rivista degli Annali di Chim. e Farmacologia, V. XXVIII, fasc. 12).

(33). — 1899. Sabbatani e Fasola, Esperienze sulla funzione motrice dell'intestino. (R. Acc. di Med. di Torino, Vol. V).

(34). — 1899. Grützner, Arch. f. ges. Phys. von Pflüger, LXXI, (citato da Fasola).

(35). — 1899. Bayliss e Starling, The Journal of Physiol., XXIV (citato da Luciani).

(36). — 1900. Sabbatani e Fasola, Sulla funzione motoria dell'intestino. (Sperimentale, anno LIV, pag. 337).

(37). — 1900. Müsham, Mittheilungen aus dem Grenzgebiete der Medicin u. Chirurgie, VI.

(38). — 1901. Enderlen et Hesse, Zeitschr. f. Chirurgie, LIX, 1901. (Da un sunto della Gazzetta degli Ospedali, 10, 1901).

(39). — 1902. Fasola, Sulla peristaltica intestinale. Ricerche sperimentali. (Sperimentale, anno LVI, pag. 33).

(40). — 1902. W. B. Cannon, Journ. of Med. Research. (Da un sunto della Semaine Médicale, 1902, n. 23).

(41). — 1902. Prutz, Sur l'antiperistaltisme. (Semaine Médicale, N. 16, 1902).

Intorno all'inibizione vedi:

(42). — 1902. Nigrisoli, Sulle resezioni estese dell'intestino. (Il nuovo raccoglitore medico 1902).

(43). — 1898. Ruggero Oddi, L'inibizione dal punto di vista fisio-patologico, psicologico e sociale. Fratelli Bocca, Torino.

Intorno ai purganti salini, vedi per la bibliografia.

(44). — Iacoangeli, Il meccanismo di azione dei purganti salini, ecc. (Ricerche eseguite nello Istituto di Farmacologia Sperimentale. Roma, vol. V, pag. 259.

RENDICONTI

DELLE

ADUNANZE DELL' ACCADEMIA MEDICO-FISICA FIORENTINA

Resoconto sommario delle sedute.

Adunanza pubblica del dì 10 Dicembre 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Baduel, Banti, Chiarugi, Daddi, Flora, Guidi, Levi, Livini, Lustig, Pellizzari, Picchi, Pieraccini, Radaeli, Stori.

G. Levi. — *Sulla differenziazione delle uova degli anfibii.* (Non fu consegnato il manoscritto).

F. Azzurrini. — *Contributo allo studio delle alterazioni spleniche nelle cirrosi epatiche.*

L' O. in 20 casi di cirrosi epatica atrofica, dei quali 8 in un periodo iniziale, 13 in stadio piuttosto avanzato, 4 con alterazioni epatiche gravissime, ha potuto riscontrare nelle milze le lesioni istologiche proprie della stasi. Le conclusioni alle quali egli giunge sono le seguenti:

Nelle splenomegalie consecutive a cirrosi epatica volgare, le alterazioni istologiche che si riscontrano nelle milze sono, nei vari periodi corrispondenti, identiche a quelle delle milze da stasi e consistono:

I. In una dilatazione delle vene e del tessuto cavernoso della polpa splenica, prodotta dall'accumulo di globuli rossi.

II. In una successiva dilatazione dei capillari dei follicoli del *Malpighi*, procedente dalla periferia verso l'arteria centrale, con fuoriuscita di elementi sanguigni, e dissociazione degli elementi cellulari costituenti i follicoli.

III. In un ispessimento della capsula, delle trabecole, e delle guaine avventizie delle vene.

IV. In una distruzione dei globuli rossi, maggiore che al normale.

V. In una serie di processi degenerativi che colpiscono gli elementi cellulari propri della polpa splenica, e che terminano col disfacimento granulare dei medesimi.

(I particolari si trovano nella memoria, pubblicata nello « Sperimentale », Archivio di biologia normale e patologica. Anno 56°, fascicoli V-VI).

Banti. — Fa rilevare la differenza che esiste fra le alterazioni istologiche, constatate dal dott. *Azzurrini* nella cirrosi epatica volgare e quelle che si riscontrano nella splenomegalia seguita da cirrosi epatica. Presenta a dimostrazione alcune fotografie di preparati.

Il Vice-Segretario
F. Radaeli.

Adunanza pubblica del dì 18 Dicembre 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Banchi, Caccia, Chiarugi, Colzi, Comba, Livini, Lugaro, Marcacci, Mya, Orefici, Orlandini, Panichi, Pieraccini, Picchi, Radaeli, Stori, Tiberti.

E. Lugaro. — *Glioma bilaterale del centro semiovale.*

L'O. dimostra con la proiezione di diapositive il reperto istologico ottenuto con la colorazione all'emateina di *Apathy* e con il metodo specifico di *Weigert* per le fibre della nevroglia. La struttura del glioma era differente dai due lati. A sinistra si notavano numerosissime cellule giganti con nuclei estremamente diversi per numero e per struttura: da un solo nucleo gigantesco e vescicoloso si va a centinaia di piccoli nuclei scuri e granulosi. Queste cellule non hanno origine vascolare, esse derivano per graduale trasformazione dagli elementi della nevroglia. Intorno ad alcuni piccoli vasi vi è una spiccata proliferazione di piccoli elementi di nevroglia. Le fibre col metodo di *Weigert* sono grosse, ma scarse. A destra il glioma è invece ricchissimo di fibre; di cellule giganti ve n'è pochissime e relativamente piccole; le cellule della nevroglia presentano nuclei grossi, chiari, reticolati, forniti di nucleolo, circondati da protoplasma abbondante tingibile col cromogeno. Intorno ai capillari si osservano fittissimi manicotti di fibrille di nevroglia, qua e là degenerati. Queste due strutture gliomatose non depongono per una origine da germi aberranti, ma per la origine da proliferazione patologica degli elementi ordinarî del tessuto, determinata da uno stimolo di origine probabilmente vascolare.

Il Segretario
C. Comba.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile.*

Clinica Ostetrica Ginecologica di Firenze, diretta dal Prof. Pestalozza.

ALTRE RICERCHE

INTORNO ALLA STRUTTURA DELLA MEMBRANA AMNIOTICA

PER L'AIUTO

DOTT. PIER LORENZO FERRARI.

(Con 7 figure).

Nello *Sperimentale*, anno XLIX (Sez. Biologica), fasc. I, ebbi occasione di pubblicare alcune mie osservazioni sulla struttura della membrana amniotica umana.

Era un modesto contributo che io portavo per la conoscenza di questa membrana, tanto studiata, quanto poco precisata nella sua essenza, se si sta al disparato giudizio che di essa danno i vari studiosi ed osservatori che se ne occuparono.

Si capisce che non era mia intenzione portare un'ultima parola sull'argomento. Sarebbe stata da parte mia troppa la pretesa, altro non volevo che riferire su fatti da me osservati, dando a questi una interpretazione che fosse consona al mio modo di vedere o a quello di altri, che di tali studi eransi occupati. E poichè io poco di assoluto potevo concludere desideravo, invogliare altri a seguirmi nelle ricerche per vedere se a qualche cosa di concreto, di definito, si poteva giungere.

Trattando di citologia, voler asserire fatti indiscutibili è cosa ardua e, oltrechè difficile, pericolosa; tanto è vero che con una certa frequenza, vediamo delle osservazioni oggi asserite, contradette al domani.

Al mio lavoro ne seguirono a breve distanza altri, occupandosi dell'argomento da me trattato. Ma, se ebbi la for-

tuna di veder preso in considerazione quanto io scriveva in allora, non ebbi quella di veder confermate le mie osservazioni. Molte di esse anzi furono contradette in un modo talora un po' troppo esplicito, per non dire acerbo. Di questo vedremo in seguito nell'analisi delle mie ed altrui osservazioni.

Dalla comune osservazione, discussione e successivo accordo su fatti osservati, dovrebbe scaturire fuori la verità, non mai da asserzioni assolute e talora un po' troppo individualmente cattedratiche.

Non voler accettare assolutamente l'opinione di un altro, per far valer la propria e quasi imporla, mi ha qualche cosa di cervellotico. Tutto quanto viene osservato si ammette, lo si discute, ma non lo si respinge come errore di osservazione, se non quando siansi osservati i preparati a vicenda.

I lavori che seguirono al mio e si occuparono dell'argomento da me trattato sono quattro. Un primo del dott. *Vignolo*, poscia uno del dott. *Tullio Ferrari*, un terzo del dottor *Colpi* ed un quarto in fine del dott. *Tullio Ferrari* stesso.

Le questioni, da noi e già da altri agitate, sono specialmente relative alla struttura dell'epitelio amniotico, e, più precisamente, alla natura di alcuni granuli che gremiscono l'interno del corpo cellulare osservato a fresco; relative ancora alla forma delle cellule epiteliali che compongono detto epitelio, alla loro disposizione, al modo di connettersi fra di loro, e di impiantarsi sugli strati sottostanti; alla modalità della loro moltiplicazione e differenziazione, a seconda che si osservano nella zona placentare od extraplacentare, ed ancora poi alla esistenza, o no di comunicazioni mediante stomi tra la superficie amniotica e gli strati sottostanti.

Secondo il *Vignolo*, la forma delle cellule epiteliali amniotiche, studiate allo stato di isolamento, nella superficie placentare, è poliedrica, quando si osservano di prospetto; viste di lato invece presentano una netta forma cilindrica, con nucleo vicinissimo alla superficie della cellula. L'amnios extraplacentare, visto in superficie, presenta un epitelio di forma romboidale, trapezoide, esagonale, in cui spesso una delle dimensioni prevale sull'altra.

Visto in sezione l'epitelio amniotico nella zona placentare presenta una forma cilindrica, cilindrico-conica colla base rivolta alla superficie libera, con nucleo situato in prossimità della superficie.

Nella zona extraplacentare la forma varia per graduale transizione, dalla cilindrico bassa alla piatta.

Conclude in ultimo; che la forma dell'epitelio amniotico sia nella zona extraplacentare prismatico-piatta, e nella zona placentare cilindrico-prismatica.

In modo fine cerca di spiegare la differenza di forma dell'epitelio studiato nelle varie zone.

Secondo il *Vignolo*, la connessione di ogni cellula epiteliale amniotica si fa per mezzo di tanti esili filamenti, che si estendono dall'uno all'altro margine cellulare vicino, come avviene per le cellule dello strato mucoso del *Malpighi* nell'epidermide.

La grandezza varia; ma entro certi limiti e non così estesa come la vorrebbe il *Lange*. Ammette l'esistenza di cellule moltinucleate più grosse.

Per quanto riguarda i granuli contenuti nelle cellule epiteliali, essi sarebbero, in parte di natura albuminoidea, ed in parte grassosa; concordando in questo colle mie osservazioni.

Le granulazioni grasse rappresenterebbero un fatto degenerativo, e si troverebbero in numero maggiore nella zona extra, che non in quella placentare.

Le cellule globose sarebbero poi dovute ad una degenerazione mucosa dell'epitelio.

Non si pronunzia per quanto riguarda l'esistenza di stomi.

Secondo il *Tullio Ferrari*, le cellule epiteliali sono coniche allungate, con apice rivolto profondamente; sono meno alte nella superficie extraplacentare, più alte nella zona placentare, in corrispondenza poi del funicolo hanno una forma piatta.

Per quanto riguarda le cellule globose, dice che, avendole osservate negli amnios normali, mette in dubbio il rapporto tra esse ed idramnios ammesso dal dott. *P. L. Ferrari*.

Noto qui per incidenza, che io mai ebbi in mente di asserire questo fatto, tanto è vero che io descrivo tali cellule nell' amnios considerato come normale da tutti, e le descrivo nelle loro varie fasi di sviluppo e di evoluzione. Solo, avendo osservato, che, queste cellule erano in numero più che cospicuo, in un caso in cui il liquido amniotico era molto abbondante, mi facevo lecito domandarmi, se eventualmente non vi poteva essere una relazione, fra liquido abbondante e cellule vescicolari in copia.

Egli crede, che si originino dai granuli, che si riscontrano negli elementi cellulari; perchè si presentano di varia grandezza, ed i più grossi mostrano con evidenza la struttura vescicolare. La riproduzione si effettuerebbe per scissione indiretta. Nega assolutamente l' esistenza di stomi.

Presso a poco uguali a quelle del *T. Ferrari*, sono le osservazioni del dott. *Colpi*. Secondo lui, le cellule viste di piatto sono poliedriche, viste in sezione sono cilindriche, tanto nella zona placentare, che nella extraplacentare, solo nella prima sono più alte e meno larghe. Questo fatto egli ritiene doversi attribuire ad una maggior adesione dell' amnios in corrispondenza della placenta, in confronto della porzione libera. Espone misure tratte da osservazioni su epitelio umano e di vari animali. Esse si uniscono per diretto contatto dei loro margini, che sono rappresentati da una linea netta, e nega assolutamente l' esistenza di laminette protoplasmatiche intermedie, o di ponticelli intercellulari.

Ammette che nella loro disposizione, nel loro modo di aggrupparsi, possano dar luogo a figure speciali; ma che abbiano in genere una disposizione a capriccio. Ammette cellule polinucleate, ed assevera la moltiplicazione dell' epitelio avvenire per scissione indiretta.

Tanto i granuli, che le cellule globose, sarebbero di una stessa natura, e rappresenterebbero un fatto degenerativo della cellula.

In un secondo lavoro il *T. Ferrari*, ritornando sull' argomento, ammette che in principio di gravidanza le cellule epiteliali amniotiche abbiano una forma piatta, come io avrei

dimostrato, e vadano gradatamente, col progredire della gravidanza, trasformandosi in cubiche fino a farsi cilindriche a termine. Accetta la mia opinione esposta come possibilità che gli elementi globosi, altro non rappresentino che una degenerazione idropica di alcune cellule.

Egli dice però che tale fatto debbasi considerare come fisiologico. Ma io non so comprendere un fatto degenerativo come fisiologico. I fenomeni fisiologici vanno ben distinti dai patologici, la fisiologia è cosa affatto opposta alla patologia.

Da quanto siamo venuti esponendo, appare evidente come siano molto disparate le idee dei vari autori sull' argomento che andiamo trattando. Erano disparate prima del mio lavoro, tali restano malgrado il succedersi di nuovi osservatori, di nuove pubblicazioni.

Solo in un punto sono concordi tutti, ed è la minima parte del lavoro, che le cellule epiteliali dell' amnios viste in superficie abbiano una forma poligonale, più o meno regolare, una varia grandezza e una varia disposizione, che talora dà luogo ad aggruppamenti figurati.

Per quanto riguarda la connessione delle cellule, io avevo osservato che, trattando un pezzo di membrana amniotica con nitrato d'argento, i margini cellulari apparivano come una linea dentellata, più o meno spessa, più o meno evidente, a seconda che la soluzione di nitrato d' argento si faceva agire per un tempo più o meno lungo, oppure se si usava una soluzione più o meno forte.

Per dimostrare che non erano erronee le mie osservazioni, come altri vorrebbe, mi parve opportuno ripetere le ricerche, e fissarne le immagini su lastre fotografiche.

Il risultato ottenuto fu lo stesso che nelle mie prime esperienze, come appunto risulta dalle annesse micro-fotografie, nelle quali appunto, il contorno della cellula è rappresentato da una linea dentellata. Nè mi par giusta l' obbiezione del dott. *Colpi* che la mia osservazione sia errata. Egli asserisce che le cellule si uniscono per vicinanza, secondo una linea netta, e che se una linea ondulata si osserva, questa giace su un piano

inferiore, ed è dovuta all' unirsi delle cellule nella loro parte bassa. I miei preparati dimostrano che la linea dentellata è perfettamente su un piano unico, che segna il contorno delle cellule alla loro superficie, che non attraversa i nuclei; ma delimita nettamente il protoplasma in cui il nucleo è contenuto. Già dissi e ripeto ancora che, la tenacità con cui le cellule si uniscono fra di loro, fa ancora più propendere per una forma spinosa o come io dissi per una forma dentata.

Disegnando dal microscopio, e fochettando, si possono ritrarre delle immagini talora un po' ideali, e che troppo appagano il modo di vedere individuale.

Quanto osservò il *Colpi*, della linea irregolare giacente su un piano inferiore a quello della superficie libera delle cellule, è un fatto vero, indiscutibile; ma detta linea non appartiene ad altro che a fibrille del connettivo sottostante alle cellule epiteliali.

Io non voglio qui dire quanto la osservazione dell' amnios in superficie sia poco facile, tanto allo stato fresco, che dopo trattato con opportuni reagenti. Lo sanno quanti di esso si occuparono, lo dimostra la disparità di vedute. Mi limito a riportare le mie osservazioni.

Già ebbi occasione di presentare alla Società Medico-Fisica Fiorentina le microfotografie qui riprodotte in zincotipia, ed in allora pure ebbi occasione di illustrarle.

Certo hanno molto perduto nella loro riproduzione; ma riescono però sempre a confermare, con evidenza, quanto io avevo osservato.

La figura 1 rappresenta appunto un lembetto di membrana amniotica, trattata con una soluzione di nitrato d'argento 1 °/₀ e sottoposta a quelle manipolazioni che già esponevo nella prima nota, per poterla poi opportunamente osservare.

Come si vede, una linea un po' spessa, talora regolarmente, talora irregolarmente, disegna e limita delle superfici, che hanno tutto l'aspetto di cellule poligonali di varia forma, di varia grandezza. In esse non manca che il nucleo, perchè non furono usati reagenti di sorta per metterlo in evidenza. La linea sud-

detta giace su un piano unico. Più dimostrativa riesce la fig. 2.

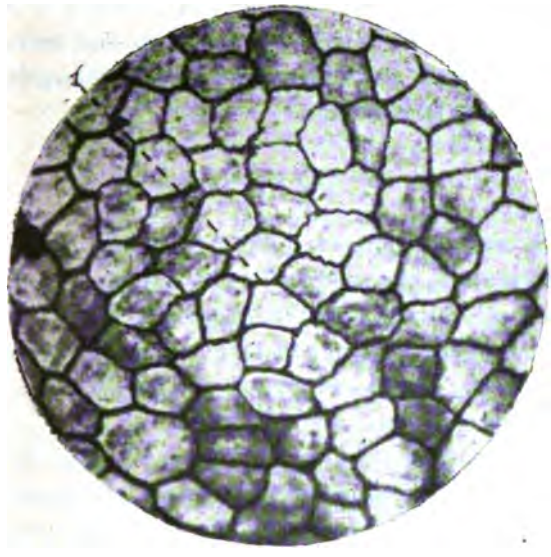


Fig. 1. — Amnios trattato con solo nitrato d'argento ed esposto alla luce successivamente senza colorazione di sorta.

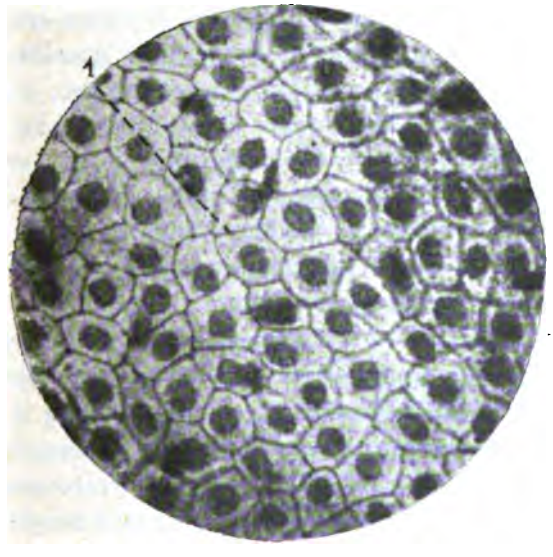


Fig. 2. — Amnios trattato con nitrato d'argento opportunamente colorato e fissato in balsamo del Canadà.

In questa figura, oltrechè la linea scura irregolare, den-

tellata, che delimita ogni cellula, appare evidente il nucleo nell'interno di ogni elemento cellulare. Anche qui la linea giace su un piano unico, nè altre se ne vedono che attraversino il nucleo, e giacenti su un altro piano: essa solo segna lo spazio esistente tra cellula e cellula.

* * *

Avendo studiato ancora l'amnios a termine in sezione, posso confermare: che l'epitelio che tappezza la sua superficie è ad un solo strato e di forma cilindrica, tanto nella zona placentare, che nella extraplacentare; solo una differenza la si osserva in questo, che nella prima zona è più alto, mentre è più basso nella seconda.

Io non voglio contraddire il *Vignolo* od altri che attribuiscono la differente forma, e specie riguardo all'altezza, al modo di preparazione e di trattamento della membrana, o al trovarsi le cellule impiantate su di una superficie più o meno resistente, più o meno retrattile: io ho esposto quanto ho osservato.

Dice il *Vignolo*, che una differenza di forma fra l'epitelio delle due zone la si possa in certo modo giustificare, pensando come l'amnios placentare, a uovo integro, nella cavità dell'utero, poggia su un organo che fornisce a lui un piano pressochè inestensibile, e che raggiunge il suo sviluppo in superficie al 7° mese di gestazione, mentre il rimanente amnios si trova in rapporto di una superficie, la quale va progressivamente aumentando in estensione per lo sviluppo dell'utero, specialmente del segmento inferiore.

Il dott. *Tullio Ferrari*, che accetta le mie conclusioni sulla forma delle cellule epiteliali in parola, scrive invece che per quanto riguarda all'influenza che può esercitare il grado di tensione della membrana sulla forma degli elementi epiteliali amniotici, questa influenza la si deve considerare minima, perchè la distensione eccessiva della membrana è resa impossibile dalla inelasticità quasi completa della lamina tendinea, sulla quale poggia la lamina epiteliale, lamina tendinea da lui descritta appunto nel suo lavoro sull'amnios.

Per parte mia non credo che la porzione così detta libera dell'amnios aumenti per distensione, ma per regolare accrescimento; solo modica deve essere la distensione che esso subisce. Certo, nel momento del travaglio del parto, verrà per forza meccanica a distendersi; ma ciò avverrà in una zona limitata della sua superficie, quella corrispondente all'orifizio uterino e destinata assieme al corion e talora da sola a formare la borsa delle acque. Quanto all'amnios placentare, che crescerebbe in altezza, non potendo estendersi in larghezza come l'altro, pel fatto di poggiare sulla placenta organo inestensibile, io accetto le vedute del *Vignolo*, però noto che la influenza della placenta non deve essere poi grande, perchè, seppur già formata quasi definitivamente al 7° mese, essa seguita ancora a crescere. Eppoi l'amnios aderisce al tessuto sottostante, per mezzo di un connettivo molto lasso che ne permette un facile scorrimento ed un facile distacco, quindi la distensione ad uovo integro, deve presso a poco esser la stessa.

A comprova di questa lassa aderenza e facile scorrimento sta ancora il fatto clinico. Non infrequentemente accade di vedere, nel travaglio del parto, rompersi unicamente il corion e la borsa delle acque essere solo formata dall'amnios, che si allunga di molto in basso, fino a protundere fuori degli organi genitali. Ora in tali casi, quasi costantemente, ad un osservatore un po' attento non sfugge, osservando gli annessi subito dopo espulsi, che l'allungamento della borsa delle acque non era che apparente, non era avvenuto per distensione; ma per un graduale distacco dell'amnios dal corion, mano mano distaccatosi sotto l'influenza delle contrazioni e sceso in basso. Tale distacco è talora estesissimo, anzi anche completo su tutta la superficie placentare fino a giungere in corrispondenza della inserzione del funicolo ombelicale.

Ricordo vari casi del genere osservati nell'assistenza ai parti. Un caso poi dimostrativo, osservato da noi, si fu quello in cui, si osservava che l'amnios, dopo essersi in totalità staccato dal corion, fino in corrispondenza dell'inserzione del

funicolo, là dove ad esso aderisce tenacemente, volendo fuoruscire integro dalla cavità uterina, aveva esercitato uno stiramento tale nei vasi, che uno di essi ne veniva ad essere lacerato e precisamente la vena. Ma di questo per ora basta.

* * *

Per quanto riguarda i granuli contenuti nel protoplasma delle cellule epiteliali, io ritengo sempre siano in parte di natura albuminoidea ed in parte grassosa. Tale idea fu pure accettata dal *Vignolo*, ma non dal *Colpi* e dal *T. Ferrari* che in proposito hanno delle vedute speciali e vorrebbero accomunarli colle cellule vescicolari: mentre invece sono due cose affatto distinte.

I granuli, che si osservano nel protoplasma fresco, non sono da confondersi colle cellule globose. Basterebbe già a dimostrarlo un fatto che, mentre nell'amnios fresco tali granuli sono evidenti, come evidenti sono le cellule globose; nell'amnios fissato coi comuni reagenti essi vengono a sparire e di essi si può dire non se ne abbia che qualche rara traccia; mentre le cellule vescicolari rimangono intatte, e spiccano sul tessuto circostante, sia in superficie, che in sezione.

Nè si può ammettere, che detti granuli segnino un primo grado di passaggio alla formazione delle cellule vescicolari: perchè allora queste dovrebbero, a termine di gravidanza, essere innumerevoli: pur ammettendone il loro graduale disfacimento. I granuli appaiono già nei primissimi tempi dello sviluppo dell'amnios, non così le cellule globose che si osservano tardivamente. Bisognerebbe credere che, appena apparso, l'amnios già cominciasse a degenerare per dar luogo a dette forme vescicolari.

Forse è più logico ora domandarci, se tali granuli non rappresentino invece un processo vitale della cellula; una espressione di una secrezione intracellulare di origine nucleare o no, e che col morire della cellula scompaiano o meglio si trasformino in guisa che a noi non sia ancora riuscito dimostrarne la loro presenza.

Ritengo dunque un fatto distinto le cellule vescicolari, delle quali non potei dimostrare la natura muccosa, come accennano invece il *Lange* ed il *Vignolo;* forse rappresentano una degenerazione idropica della cellula.

Non mi riuscì dimostrare forme cariocinetiche di sorta. Non nego che ne possano esistere avendone il dott. *Colpi* riportato delle figure splendide, quasi ideali. Mi limito a dire che, malgrado un enorme numero di preparati fatti, di moltissimi amnios, non mi riuscì trovare cellule in mitosi.

Fig. 3.

È vero che la teoria della scissione diretta, per quanto riguarda la moltiplicazione delle cellule è andata e va gradatamente perdendo terreno; non è però ancor dimostrato assolutamente che essa non possa esistere, come dice il *Luchianow* nel suo splendido trattato sulla patologia cellulare.

* * *

Nè solamente sono discordi i vari autori sulle quistioni finora accennate; ma vi ha una concordia quasi generale fra

coloro, che ultimi si occuparono dell'argomento, nel non voler ammettere, anzi talora recisamente negare l'esistenza di comunicazioni, mediante stomi, tra lo strato epiteliale e gli strati più profondi.

Vinkler, *Winogradow* ed altri già descrissero tali stomi ed a me è parso osservare una disposizione speciale dell'epitelio e del tessuto sottostante che mi portano a confermare la loro esistenza.

Nell'osservare l'amnios in superficie, mi occorse di vedere in taluni punti una disposizione figurata degli elementi epiteliali a forma concentrica, cioè una disposizione tale, che dà l'impressione, nei preparati trattati con nitrato d'argento, di un punto rotondeggiante centrale nero contornato di cellule che si dispongono attorno ad esso regolarmente, a cerchio, conservando la loro forma irregolarmente poligonale e dentellata sui margini. Tali cellule vanno gradatamente aumentando di mano in mano che si allontanano dal punto centrale, e quelle più vicine a questo, e più piccole, sembrano essere poste in un piano più inferiore di quello su cui giacciono gradatamente le più esterne al punto su nominato.

Sono specialmente su questi punti centrali che si fondano gli osservatori per contraddire l'esistenza di stomi, come io li avrei interpretati. Anzi il *Colpi* dice che io ho creduto di intravvedere attraverso ad essi un canalicolo ed un leucocita che andava in esso gradatamente insinuandosi.

In realtà così non è. Solo dopo osservato l'amnios in sezione, venni a sospettare che quei punti neri, contornati da cellule simmetricamente disposte, corrispondessero ad una disposizione speciale degli strati sottostanti, disposizione che dovrò ripetere nella descrizione, per poter illustrare le annesse figure.

Intanto dico: che quelli spazi neri non corrispondono a cellule epiteliali cadute perchè non ne hanno la forma, come pure, non rappresentano elementi giovani anneriti dal nitrato d'argento. Non sono cellule globose scoppiate, perchè queste non si anneriscono.

La possibilità adunque dell'esistenza di stomi, io la dedu-

cevo dall'amnios osservato in sezioni, e ciò che allora ritraevo copiando dal microscopio in inchiostro, ora riproduco in microfotografie. O fui frainteso, oppure non mi riuscì di spiegarmi abbastanza chiaramente.

L'amnios, visto in sezione, appare costituito da un unico strato epiteliale, di cui già dovemmo occuparci, e da un tessuto connettivo sottostante, limitati tra di loro da una linea retta o leggermente ondulata.

Osservando molte sezioni, occorre costantemente di riscontrare che la superficie libera nell'amnios, non rappresenta una linea, un piano continuo, ma vi si riconoscono delle particolarità che ben si rilevano nelle figure 4, 5, 6, 7.

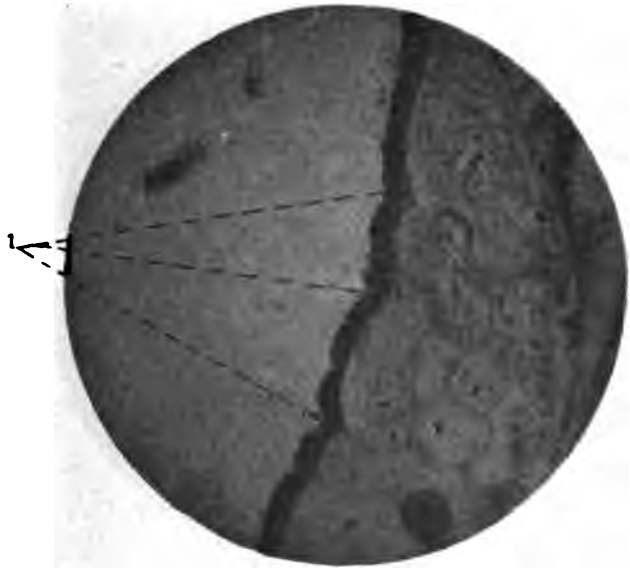


Fig. 4. — Amnios trattato con nitrato d'argento, fissato, incluso, colorato con ematossilina ed incluso in balsamo del Canadà. — 1. Avvallamenti epiteliali evidenti.

In alcuni punti della superficie l'epitelio sembra avvallarsi mantenendosi le cellule intatte nella loro forma, rapporti e costituzione. Ne viene a risultare che le più centrali del punto avvallato sono in un piano inferiore.

Nè si può dire che questa parvenza sia dovuta a difetto di preparazione, perchè costante e troppo frequente. Eppoi corrisponde ad una disposizione speciale che il connettivo sottostante assume appunto, là dove tali avvallamenti si manifestano.

Se noi appunto osserviamo le figure 4 e 5, tali avvallamenti riescono evidentissimi, e corrispondono alle estremità delle lineette artificialmente segnate a tratti e segnati col numero 1. Anzi in qualcuno di essi, specie nella figura 5, in quell' avvallamento, che trovasi fra quelli segnati col numero 1, la disposizione speciale del connettivo si comincia a

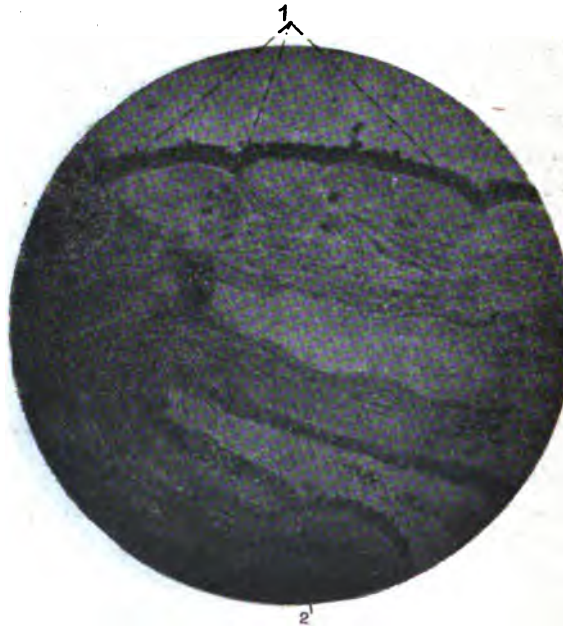


Fig. 5. — Amnios trattato come nella figura 4 per dimostrare gli avvallamenti epiteliali e la disposizione speciale del connettivo ad essi sottostante, n. 1

vedere con evidenza, come la si vede nelle altre, ma più evidente nelle segnate col N° 6 e 7.

E veniamo a questo connettivo. Mi occorrerà ripetere cose da me già dette; ma ciò è necessario.

Come si sa io divido l'amnios in due strati unici, uno epiteliale, e l'altro connettivale, senza far di questo tante suddivisioni che possono sembrare un po' artifiziose.

Al disotto della lamina epiteliale comincia direttamente il connettivo che, dove l'epitelio si impianta, appare come una linea fibrillare quasi retta. Più all'esterno, o più profondamente che dir si voglia, l'aspetto fibrillare si fa maggiormente manifesto, e presenta delle ondulazioni marcate; ed ancora più all'esterno le fibrille si fanno più rade, meno stipate, e si dirigono in vario senso intrecciandosi fra di loro in modo da circoscrivere degli spazi di varia forma triangolari, rotondeggianti, ovale-allungati.

Alcuni di questi spazi si mostrano nei preparati al nitrato d'argento ricchi di granuli neri ivi depositatisi; altri invece presentano nel loro interno una cellula rotondeggiante.

Non credo necessario diffondermi in altre particolarità che già descrissi nell'altro lavoro, salvo quanto occorre a spiegare una speciale disposizione del connettivo, come si era detto, in corrispondenza degli avvallamenti imbutiformi. Ma prima di arrivare a questo mi è necessario ancora accennare che profondamente, nel connettivo, oppostamente al punto avvallato, non è difficile riscontrare uno di questi spazi chiari talora vuoti, come appare nella figura 5, in quell'avvallamento stesso già ricordato per la speciale disposizione del connettivo, talora contenente una cellula rotonda come appare nella figura 6.

La figura 5 comincia a essere dimostrativa perchè nell'avvallamento mediano e subito al disotto dell'epitelio, il connettivo non si dirige orizzontalmente; ma verticalmente o, per meglio dire, obliquamente in due fasci, che si dirigono in senso opposto, dall'alto al basso, lasciando uno spazio in basso di forma triangolare vuoto, limitato poi più sotto da fibrille dirette più o meno orizzontalmente in modo da dar luogo ad uno spazio chiaro.

Nella figura 6 poi, non troviamo evidente la disposizione speciale del connettivo; ma ancora nello spazio chiaro da esso delimitato possiamo discernere con tutta chiarezza una cellula

rotonda. Anzi, se noi osserviamo un po' attentamente tale spazio esso ha una forma ellittica, con diametro maggiore in senso verticale, e la parte più ristretta verso l'epitelio; a sua volta la cellula, ha una forma ovoidale, con massimo diametro in senso verticale pur esso.

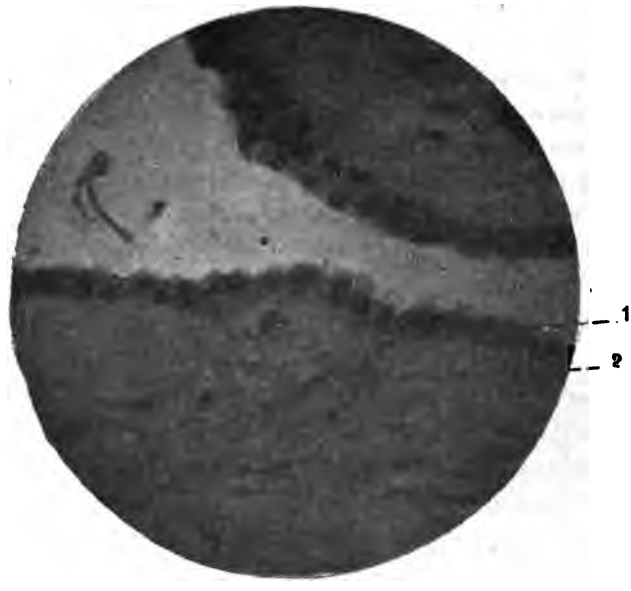


Fig. 6. — Amnios trattato come i precedenti. — 1-2 avvallamenti epiteliali. Nel n. 1 si vede opposto all'avvallamento uno spazio chiaro con leucocita.

Ed ora mi è necessario far osservare come nella figura 7 la disposizione del connettivo in direzione verticale verso un avvallamento epiteliale (1) è evidente; come pure è evidente lo spazio chiaro in una regione opposta, contenente una cellula (3). Ma un fatto nuovo si viene a notare che: avvallamento e spazio chiaro, sono riuniti da una linea, che si porta quasi rettilinea dalla profondità alla superficie (2) e la cellula di forma ovoidea, pare dirigersi colla parte più piccola alla superficie libera.

Queste sono le mie osservazioni fatte: pure e semplici; e, come si vede, non vi ha ombra di immaginazione.

Aggiungo ancora che questa disposizione speciale poi, non ha bisogno di essere dimostrata col nitrato d'argento. Anche adoperando comuni fissativi, e comuni metodi di colorazione,

FIG. 7. — Amnios trattato come i precedenti. — 1. Avvallamento epiteliale. — 2. Linea nera o forse canalicolo che riunisce l'avvallamento e lo spazio chiaro. — 3. Spazio chiaro contenente un leucocita.

con accurato ed attento esame di varie sezioni, la si riesce a dimostrare costantemente.

Alla figura 7 si potrebbe: obbiettare che quello da me supposto canalicolo dovrebbe essere circondato da cellule giacenti in un piano molto inferiore da quello delle cellule della superficie. Faccio però notare che ciò dipende dall'enorme ingrandimento, che abbraccia pochissimo spazio.

Questa disposizione speciale può portare al concetto che possano esistere comunicazioni tra superficie libera dell'am-

nios e strati sottostanti? Io lo credo, e se al dottor *Colpi*, iniettando sostanze in sospensione nell'acqua, nella cavità amniotica di cavie, non riuscì a trovarle negli strati sottoepiteliali, non è ancora ragione assoluta per negare le mie osservazioni. Io del resto non volevo che asserire una mia osservazione anatomica.

Noto però che il prof. *Pestalozza* iniettando sostanze grassose in minutissima emulsione nella cavità amniotica, pare ne riscontrasse la presenza negli strati profondi.

Con questo ho finito senza voler contraddire, solo volendo sostenere quanto ho osservato e che sarà presto spero confermato da esperienze di altra natura.

Bibliografia aggiunta alla prima memoria.

VIGNOLO, Alcune considerazioni istologiche sulla struttura delle membrane ovulari a termine di gravidanza. (Annali di Ostetricia e Ginecologia, 1897, n. 1).

T. FERRARI, Ricerche sulla struttura normale e patologica dell'amnios. (Rivista Veneta di Scienze mediche, anno XV, fasc. 1 e 2. Venezia, 1898).

A. COLPI, Sulla struttura dell'amnios. (Archivio per le Scienze mediche, vol. XXII, n. 17).

T. FERRARI, Nuove ricerche sulla struttura normale e patologica degli annessi fetali. (Archivio italiano di Ginecologia, 1898, n. 5).

S. M. LUKJANOW, Éléments de pathologie cellulaire générale. Trad. par Fabre-Domergue et A. Pettil. Paris, 1895, Georges Carré, éditeur).

Istituto Imperiale di Medicina sperimentale di Pietroburgo, Sezione di Patologia generale
(Prof. Lukianow).

SULLE NEUROTOSSINE E SULLE ALTERAZIONI DA ESSE PRODOTTE

SUL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

PER IL

DOTT. RAFFAELE PIRONE.

Parte I. — Ricerche sperimentali.

I. — Lo studio dei veleni cellulari di origine animale, o delle citotossine, secondo la denominazione del *Metchnikoff* (1), benchè di data ancor recente, conta già una ricca bibliografia (2). Tuttavia, malgrado la ricca messe di dati raccolti, l'argomento è ben lungi dall'essere esaurito, non pure per quanto di nuovo possa essere ancora ricercato intorno ad esso, ma anche per quanto riguarda ricerche già fatte; delle quali, se alcune si possono dire quasi complete, altre non rappresentano per ora che dei tentativi, spesso di dubbio risultato. Sono fra queste seconde le più recenti ricerche, come quelle sulle miotossine, neurotossine, epatotossine, tireotossine ecc., le quali io credo dovrebbero esser tutte sistematicamente ripetute, poichè se il loro interesse pratico può parere inferiore, ad esempio, a quello delle emotossine od emolisine, non per questo scema il loro interesse teorico, anche a non tener conto di tutti i dati che ancora si possono ricavare da esse, e del cui valore è impossibile giudicare in astratto.

Guidato da queste idee, avevo in animo di ripetere qualcuna delle citate ricerche; accettai perciò tanto più volentieri la proposta del prof. *Lukianow* che mi consigliava di ristudiare

la questione delle neurotossine, pigliando le mosse dalle ricerche fatte sullo stesso soggetto dal *Delezenne*.

II. — Il *Delezenne* (3) applicando, alla produzione di un siero neurotossico, la tecnica ordinaria per le analoghe ricerche sul sangue, cercò di avere un siero tossico, per la cellula nervosa del coniglio, dalla cavia; ma, non avendo avuto da queste prime ricerche risultati favorevoli, pensò di sperimentare su animali più lontani fra loro nella scala zoologica e scelse un mammifero ed un uccello, per ragioni di tecnica poi preferì il cane e l'anitra. Per lo spazio di due mesi, egli fece ad una serie di anitre 5–6 iniezioni intraperitoneali progressivamente crescenti di una emulsione asettica di cervello, cervelletto, bulbo e midolla di cane in soluzione fisiologica: cominciò da 8–10 gr. di sostanza nervosa, ed arrivò fino a 15–20 gr. della stessa per iniezione. Le anitre erano salassate 8–10 giorni dopo l'ultima iniezione; ed il siero, ottenuto per centrifugazione, era immediatamente iniettato nel cervello dei cani, in una dose proporzionale al peso dell'animale. Il *Delezenne* ricorse alle iniezioni endocerebrali, per mettere in diretto contatto del tessuto nervoso il siero di cui voleva provare l'azione, ed eliminare perciò qualsiasi causa avesse potuto frapporsi all'azione di esso sull'elemento nervoso, qualora l'iniezione fosse stata fatta per altra via. Prima però di studiare l'azione del siero delle anitre preparate, il *Delezenne* volle studiare l'azione del siero delle anitre normali sul cervello del cane. E si assicurò così della innocuità di esso; perchè le iniezioni endocerebrali di 0,5-0,6 cc. per kg. di animale erano sopportate dai cani senza accidenti di sorta, e solo con le dosi di 1–1,2 cc. per kg., i cani presentavano disturbi nervosi di una certa entità, dei quali per altro si rifacevano completamente ed in breve. Viceversa il siero delle anitre preparate mostrò un'azione decisamente tossica sul sistema nervoso del cane. Con dosi di 0,1–0,2 cc. per kg. i cani mostravano poco tempo dopo l'iniezione, fenomeni di indebolimento generale, cui seguivano fenomeni convulsivi tonici o clonici fino a dei veri accessi epilettici: questo periodo di eccitazione durava 7–8 ore, per dar luogo ad una completa paralisi ed alla morte in 10–12 ore.

Con dosi di 0,3-0,4 cc. per kg. ai fenomeni convulsivi premonitori seguiva più rapidamente la paralisi motrice e la morte in poche ore. Le dosi di 0,5-0,6 cc. per kg. annientavano di botto l'attività cerebrale e gli animali morivano per una acuta paralisi respiratoria. Per la comparsa di questo potere neurotossico nel siero delle anitre bastavano già due o tre iniezioni di sostanza nervosa, ma esso aumentava con le iniezioni successive fino ad un massimo di azione tossica, che non era possibile sorpassare, malgrado ulteriori iniezioni immunizzanti. Che questo siero neurotossico poi fosse specifico per la cellula nervosa, il *Delezenne* lo deduceva sia dai sintomi nervosi da esso provocati, sia dal fatto che sieri leucolitici ed emolitici erano inattivi pel sistema nervoso; e che fosse infine specifico per la specie animale che aveva fornito la sostanza nervosa era provato da questo, che il siero tossico pel cane, riusciva quasi inattivo pel coniglio ed esercitava sul gatto una azione ben leggiera rispetto a quella che aveva sul cane.

Con questi dati mi accinsi alle mie ricerche, e le avevo quasi menate a termine, quando comparve sullo stesso argomento uno studio del *Ravenna*, il quale, a proposito delle sue, parlava pure delle ricerche del *Centanni* sui sieri neurotossici, quasi contemporanee a quelle del *Delezenne*.

Contrariamente al *Delezenne*, il *Centanni* (4) ebbe con qualche difficoltà un siero nevrotossico, perchè solo dopo 7 $^1/_2$ mesi di trattamento immunizzante ebbe da una pecora un siero tossico pel sistema nervoso del coniglio. Questo siero alla dose di $^1/_3$ di cc. iniettato direttamente nel cervello del coniglio determinava la morte dopo parecchie ore, in mezzo ad un abbassamento continuo di temperatura. Il *Ravenna* (5) ripetette gli esperimenti del *Delezenne*, ma con diverso risultato; poichè il siero da lui ottenuto, immunizzando le anitre con sostanza nervosa di cane, non solo non si sarebbe dimostrato costantemente tossico, ma non avrebbe neppure dimostrato una azione specifica verso la specie animale fornitrice della sostanza nervosa, stante che anche il coniglio avrebbe risentito l'azione di esso; in ogni modo la sua azione tossica sarebbe stata di gran lunga inferiore a quella del siero di *Delezenne*.

In questa discordanza di risultati l'interesse alla ricerca, per me divenne anche maggiore. E parendomi che in esperienze così delicate, molto fosse dovuto nel risultato finale alla tecnica, tenni di mira principalmente questa, sia nella immunizzazione delle anitre, sia nella preparazione del loro siero, sia nel praticare le iniezioni. Non credo inutile quindi farne un breve cenno qui, anche per non ripetermi in seguito.

III. — Avendo scelto pure io, come animali d'esperimento, l'anitra ed il cane, ecco come ho proceduto alla immunizzazione delle anitre. Ucciso un cane per dissanguamento, veniva subito prelevato l'asse cerebro-spinale che era triturato finamente in un mortaio sterilizzato; la poltiglia così ottenuta era allungata con $^2/_3$ in volume di una soluzione sterilizzata di cloruro sodico al 0,85 %; e questa emulsione filtrata attraverso garza sterile era iniettata alle anitre. Quattro grosse anitre per lo spazio di circa due mesi e mezzo, ricevettero nel peritoneo in quattro volte dosi sempre crescenti della emulsione predetta, e propriamente: 8, 12, 16, 20 cc. Le anitre non risentirono affatto delle iniezioni, solo una dimagrì un poco dapprincipio, ma fu un fatto passeggiero.

Per ottenere il siero dalle anitre così preparate, non mi servii, come *Delezenne*, della centrifugazione del sangue, ma della coagulazione, raccogliendo tutto il siero che si separava spontaneamente. Il sangue, raccolto da una arteria direttamente in un matraccio sterilizzato era fatto coagulare a becco di flauto; il matraccio era messo per le prime due ore nel termostato a 37°, quindi era lasciato a temperatura della stanza; in 3-4, 12 ore al massimo, si aveva sul fondo di esso una quantità sufficiente di siero, di cui io prelevavo con una pipetta sterilizzata lo strato superiore perfettamente trasparente. Ho creduto di attenermi a questo procedimento, per evitare che nel siero capitassero detriti di corpuscoli sanguigni, cosa inevitabile quando si centrifuga il sangue; in qualche esperimento però mi son servito pure della centrifugazione.

Dodici ore in media dopo la presa del sangue dalle anitre, praticavo ai cani la iniezione endocerebrale del siero. La

dose da iniettare fu calcolata in rapporto al peso del corpo dell'animale; le iniezioni furono fatte in tutti i cani, previa trapanazione, nei lobi frontali, innanzi del *sulcus cruciatus*, dirigendo l'ago, lungo e molto fino, innanzi ed un po' obliquamente in fuori e spingendo il liquido con la massima lentezza.

Prima di sperimentare col siero delle anitre preparate, ho voluto fare anche io qualche esperimento col siero di anitra normale, per assicurarmi sia della innocuità o meno di esso pel cervello del cane, sia della resistenza del cervello del cane al rapido aumento della pressione endocerebrale; quindi sono passato agli esperimenti col siero delle anitre immunizzate, di cui un primo gruppo fu eseguito dopo la terza iniezione, un secondo dopo la quarta iniezione immunizzante di sostanza nervosa.

Debbo poi avvertire che la impossibilità di avere molti cani a mia disposizione in una sola volta, mi ha impedito di praticare tutti gli esperimenti, come io avrei desiderato, allo stesso intervallo di tempo dall'ultima iniezione vaccinante alle anitre (rispettivamente terza e quarta). Di questa circostanza è necessario si tenga conto nel valutare i risultati degli esperimenti.

IV. — 1. *Esperienze col siero di anitre normali.*

Feci quattro esperimenti che designerò coi numeri I (15 aprile 1902), II (25 aprile), III (21 maggio), IV (6 giugno). Il peso dei cani variò fra 7 ½-10 ½ kg. La dose di siero iniettata fu rispettivamente di 0,5-0,6-0,4-0,5 cc. per kg.

Solo il I ed il II cane presentarono dopo l'iniezione come un indebolimento degli arti ed una certa difficoltà di cammino, di cui però si riebbero in breve tempo.

Non feci, dopo di questi, altri esperimenti col siero di anitre normali, sembrandomi che da essi risultasse abbastanza dimostrata sia la tollerabilità del cervello del cane per un rapido aumento della pressione endocerebrale, sia la nessuna azione del siero di anitra normale sulla cellula nervosa del cane.

Circa le dosi impiegate poi, dirò che volendo fare col siero delle anitre normali degli esperimenti, ai quali avessi potuto paragonare quelli col siero delle anitre immunizzate, mi sono attenuto alle dosi intorno ai

0.5 cc. essendo stata questa la dose di siero delle anitre preparate, che dètte al *Delezenne* il massimo effetto tossico.

2. *Esperienze col siero delle anitre immunizzate.*

V esperimento, 13 maggio 1902. — Allo stesso cane al quale il 15 aprile erano stati iniettati 0,5 cc. di siero di anitra normale per kg. è iniettata la stessa dose di siero di un'anitra che da 12 giorni aveva ricevuto la terza iniezione immunizzante di emulsione nervosa. La iniezione, che nel primo esperimento era stata fatta nel lobo frontale destro, in questo secondo è fatta nel lobo frontale sinistro. Subito dopo l'iniezione, il cane cade in una narcosi profonda nella quale rimane circa mezz'ora; la respirazione è aritmica, spesso intercisa, negli arti anteriori si notano di tanto in tanto delle contrazioni spastiche. Ridestatosi dalla narcosi, l'animale fa qualche tentativo per rialzarsi, ma ricade sul treno posteriore dapprima paretico, poi completamente paralitico. Quindi l'animale ricade nel coma e, persistendo sempre i disturbi respiratori, muore in 10 ore circa dall'iniezione.

VI esperimento, 20 maggio 1902. — Cane nero bastardo del peso di kg. 6,650. Iniezione nel lobo frontale destro di 3,5 cc. (poco meno di 0,5 cc. per kg.) di siero di un'anitra che da 20 giorni aveva ricevuto la terza iniezione di sostanza nervosa. Dopo l'iniezione il cane presenta dapprima una andatura atassica, quindi paresi e poi paralisi degli arti posteriori, nei quali si notano pure delle scosse cloniche. La respirazione è aritmica come nell'esperimento precedente, ed il cane non tarda a cadere in una stato comatoso, in cui rimane tre giorni, indifferente a qualsiasi stimolo. Al 4° giorno si comincia a destare da questo stato, ma nei movimenti che cerca di fare ricade sul treno posteriore paretico, e solo facendo degli sforzi riesce a trascinarsi. Nei giorni successivi però migliora, ed al 10° può dirsi del tutto rimesso.

VII esperimento, 28 maggio 1902. — Cane bianco bastardo del peso di kg. 6,500. Iniezione nel lobo frontale destro di 3,5 cc. (0,5 cc. per kg.) di siero di un'anitra che da 28 giorni aveva ricevuto la terza iniezione immunizzante di emulsione nervosa. Il cane dopo l'iniezione è debole, ha un'andatura atassica, non vede o non si accorge degli oggetti, perchè inciampa e cade ad ogni ostacolo che incontra e difficilmente si rialza. La maggiore difficoltà è a tenere su il treno posteriore paretico, difficoltà che aumenta via via così che il cane finisce per non potersi più rialzare, mentre sopraggiungono degli spasmi clonici, localizzati specialmente agli arti posteriori ed i soliti disturbi respiratori. Il giorno dopo l'animale è in quello stato comatoso già notato: sollevato di peso ricade inerte, persistono gli spasmi ed i disturbi respiratori. Queste condizioni durano tre giorni, al quarto l'animale comincia a riaversi.

VIII esperimento, 30 maggio 1902. — Piccolo cane nero del peso di kg. 3,600. Iniezione nel lobo frontale destro di 1,7 cc. per kg. di siero di un'anitra che da un mese aveva ricevuto la terza iniezione immunizzante di sostanza nervosa.

L'animale non risente alcun effetto nè immediato, nè postumo.

IX esperimento, 30 maggio 1902. — Coniglio grigio del peso di kg. 2,790. Iniezione nel lobo frontale destro di 1,2 cc. dello stesso siero dell'esperimento VIII.

L'animale presenta abbattimento, tachipnea, leggiera paresi degli arti posteriori; ma dopo qualche ora questi disturbi sono scomparsi.

X esperimento, 31 maggio 1902. — Coniglio grigio del peso di kg. 3,110. Iniezione nel lobo frontale destro di 1 cc. dello stesso siero dell'esperimento precedente. L'animale presenta una leggiera e transitoria paresi del treno posteriore.

XI esperimento, 31 maggio 1902. — Coniglio nero del peso di kg. 2,900. Iniezione nel lobo frontale destro di 1 cc. del siero precedente. L'animale ha dei movimenti di maneggio, che durano nei giorni successivi, anche dopo cessato il forte abbattimento in cui cade subito dopo l'iniezione, ma già al terzo giorno sono più deboli e più rari, ed al quarto del tutto scomparsi.

XII esperimento, 15 giugno 1902. — Cane nero bastardo del peso di kg. 8. Iniezione nel lobo frontale destro di 4 cc. (0,5 cc. per kg.) di siero di un'anitra che da 12 giorni aveva ricevuto la quarta iniezione di sostanza nervosa. L'animale dopo l'iniezione è molto abbattuto, ha un tremore in tutto il corpo, tenta qualche passo, ma ricade su sè stesso, e non tardano a sopraggiungere i disturbi respiratori ed il coma, dei quali l'animale si comincia a riavere solo al terzo giorno.

XIII esperimento, 17 giugno 1902. — Cane bianco del peso di kg. 9,300. Iniezione nel lobo frontale destro di 4,5 cc. (0,5 cc. per kg.) di siero ottenuto per centrifugazione dal sangue di un'anitra che da 15 giorni aveva ricevuto la quarta iniezione immunizzante. L'animale presenta andatura atassica e leggera paresi degli arti posteriori. Nelle ore successive è abbattuto, ma non in quello stato di coma di molti altri; non può tenersi sugli arti, e rimane per due giorni rannicchiato in fondo alla gabbia in uno stato semicomatoso, del quale per altro finisce per riaversi.

XIV esperimento, 19 giugno 1902. — Cane bianco del peso di kg. 7,900. Iniezione nel lobo frontale destro di 3 cc. di siero di anitra ottenuto per centrifugazione, riscaldato per mezz'ora a 50° e mescolato con 1 cc. di siero fresco di cavallo (0,5 cc. di siero misto per kg.). L'iniezione non produce alcun effetto immediato. Solo il giorno appresso il cane presenta quello stato comatoso già notato negli esperimenti precedenti, ma di più breve durata.

XV esperimento, 25 giugno 1902. — Cane nero del peso di kg. 11,450. Iniezione nel lobo frontale destro di 5,7 cc. (0,5 cc. per kg.) di siero di

un'anitra che da 23 giorni aveva ricevuto la quarta iniezione di emulsione nervosa. L'animale non presenta altro che quello stato comatoso, durante il quale è sacrificato al secondo giorno dopo l'iniezione per lo studio del cervello.

V. — Riandando questi esperimenti, il più dimostrativo è senza dubbio il V, poichè le condizioni in cui esso fu fatto, sono comparabili fra loro quanto altre mai. La medesima anitra fornì il siero prima e dopo la immunizzazione con sostanza nervosa, lo stesso cane ricevette l'una e l'altra iniezione di siero, la dose di siero impiegata fu la stessa nel primo e nel secondo esperimento. Ora il cane che aveva tollerato senza notevoli disturbi la iniezione endocerebrale del siero dell'anitra normale, morì poche ore dopo l'iniezione del siero della stessa anitra immunizzata in mezzo ad una grave sindrome nervosa.

Tuttavia a questo risultato si poteva muovere una critica, e cioè che esso non fosse dovuto a delle neurotossine elaborate dall'anitra sotto l'immunizzazione con sostanza nervosa di cane, ed avente azione specifica sul cervello del cane; ma al fatto che avendo il cervello di questo animale subìto il trauma di una precedente iniezione, fosse diventato meno resistente, ed avesse quindi maggiormente risentito l'azione di una seconda.

Eseguii allora il VI e VII esperimento su cani nuovi, iniettando ad essi il siero di una seconda e terza anitra preparata. I cani non morirono, ma presentarono entrambi un insieme di fenomeni da far pensare che i centri nervosi superiori fossero gravemente offesi. I risultati del V esperimento erano in tal modo confermati; e tanto più, se si tien conto, oltre che della differente reazione individuale sia delle anitre alla immunizzazione con sostanza nervosa, sia dei cani alla iniezione endocerebrale, del maggiore intervallo di tempo che negli esperimenti VI e VII passò fra la terza iniezione immunizzante alle anitre e le esperienze sui cani.

Una quarta anitra fornì il siero per gli esperimenti VIII, IX, X e XI. Ma il cane dell'esperimento VIII non reagì affatto

alla iniezione, mentre i conigli presentarono dei leggeri disturbi. Come spiegare questi fatti in apparenza contradittori fra loro e coi risultati degli esperimenti precedenti? Circa gli effetti sui conigli, io inclino a credere che essi, così differenti da quelli avuti nei cani, sieno dovuti più al fatto meccanico della iniezione che alla azione tossica del siero; tanto più che effetti identici ho visto insorgere talora nei conigli con le iniezioni endocerebrali di siero di anitre normali, perfino con iniezioni di soluzione fisiologica, specie se esse non erano fatte con la massima lentezza. Pel mancato effetto sul cane poi, si potrebbe pensare ad una mancata elaborazione di neurotossine da parte dell'anitra fornitrice del siero, ovvero ad una attenuazione, fino alla scomparsa del potere neurotossico del siero stesso, dato lo scarso numero di iniezioni immunizzanti ed il lungo lasso di tempo (1 mese) fra l'ultima e l'esperimento sul cane. Più verosimile mi sembra la seconda ipotesi, perchè questa stessa anitra, dopo la quarta iniezione immunizzante di emulsione nervosa, fornì un siero dotato di manifesto potere neurotossico.

Dei successivi esperimenti, fatti dopo la quarta iniezione immunizzante alle anitre, due (XII e XV) furono eseguiti come i precedenti, in due altri (XIII e XIV) variai il modo di preparazione del siero, per vedere se si potesse in certa guisa rinforzarne l'azione tossica verso il cervello dei cani.

E volli dapprima vedere se adoperando un siero più fresco di quello che impiegavo ordinariamente, non ne variassero gli effetti tossici. Perciò nell'esperimento XIII centrifugai il sangue dell'anitra, ed iniettai subito al cane il siero ottenuto; ma gli effetti non differirono da quelli dell'esperimento XII ad esempio, in cui il siero fu ottenuto per separazione spontanea dal coagulo.

Tentai ancora di ottenere artificialmente una neurotossina più attiva, col sostituire in quella prodotta dalle anitre, alle alessine delle anitre, le alessine più attive contenute nel siero di qualche altro animale. Ricorsi perciò al siero del cavallo che normalmente contiene svariate alessine (6) e lo aggiunsi al siero dell'anitra immunizzata, previamente riscaldato a 50°

per distruggervi le alessine contenute. In tal modo la neurotossina doveva esser formata degli ambocettori specifici (rispettivamente « sostanza sensibilizzatrice » di *Bordet*, « fissatori » di *Metchnikoff*, « desmoni » di *London* ecc.) elaborati dall'anitra, più le alessine del cavallo. Ma l'artificio non giovò allo scopo; ed i risultati dell'esperimento XIV non differirono dai precedenti e furono anche più leggeri di quelli del successivo XV esperimento.

Senza volere entrare ora, dopo questa scorsa sommaria dei risultati degli esperimenti, in un minuto esame dei sintomi presentati dai cani, che io d'altronde son lungi dal riferire tutti alla neurotossina, mi limiterò a porre in rilievo il fatto che emerge dagli esperimenti e dalle considerazioni precedenti, cioè: nel siero delle anitre immunizzate con sostanza nervosa di cane, si trova costantemente una sostanza assente in condizioni normali nel siero delle stesse; questa sostanza, diciamola senz'altro neurotossina o neurolisina, esercita una azione tossica specifica sul cervello dell'animale che ha fornito la sostanza nervosa immunizzante.

Confrontando ora questi miei risultati con quelli degli altri, essi si avvicinano, salvo qualche differenza, più a quelli del *Delezenne* che a quelli del *Ravenna*.

La differenza fra i risultati del *Delezenne* ed i miei sta in ciò che gli effetti avuti da lui sono stati più violenti e più gravi di quelli constatati da me: difatti le dosi di siero nevrotossico che nei suoi esperimenti determinavano infallibilmente la morte nei cani, nei miei non l'hanno data che in un sol caso. Ora io credo che la principale ragione di queste differenze debba risiedere nella quantità di sostanza nervosa adoperata nella immunizzazione delle anitre. Il *Delezenne* ha adoperato quantità maggiori delle mie: come lui stesso dice, ha raggiunto un massimo di immunizzazione, dal quale io son rimasto lontano, avendo adoperato minori quantità di sostanza nervosa: e si sa che, da parte degli animali immunizzati con elementi figurati di qualsiasi specie, la produzione di ambocettori cresce a misura del trattamento degli animali stessi con questi tali elementi (7). Salvo questa differenza, per altro i

risultati miei e del *Delezenne* concordano sia sulla produzione costante della neurotossina, sia sulla specificità di essa verso la specie animale fornitrice della sostanza nervosa immunizzante.

Dai risultati del *Ravenna* poi i miei differiscono più profondamente. Così, mentre per lui la preparazione di un siero nevrotossico è sperimentalmente una cosa tutt'altro che sicura, a me è apparso viceversa un fatto costante; e mentre per lui il siero nevrotossico non avrebbe azione specifica verso la specie animale fornitrice della sostanza nervosa immunizzante, a me pare invece di aver constatato questa specificità. Di questa differenza io non saprei dar ragione, a meno di non volerla trovare nelle differenti circostanze in cui si sono forse svolti gli esperimenti del *Ravenna* ed i miei.

Parte II. — Ricerche istologiche.

I. — A completare lo studio delle neurotossine, dopo l'esame dei disturbi nervosi funzionali, ho voluto studiare le alterazioni istologiche del cervello degli animali iniettati con siero nevrótossico. In ciò fare però, ho voluto, più che constatare le fini alterazioni delle cellule isolatamente considerate, vedere se e quale fosse la reazione del tessuto nervoso nel suo insieme alla azione della neurotossina. Poichè a me è parso che la ricerca istologica fosse proficua, non per il fatto che per mezzo di essa si potessero mettere in evidenza delle alterazioni dei centri nervosi, ma solo in quanto da queste alterazioni si potessero ancora ricavare dei dati in favore della azione patogena o meno della neurotossina sui centri nervosi stessi; il che certamente non si potrebbe, qualora si fosse limitata la ricerca alle sole lesioni delle cellule, tralasciando quelle dei vasi e della nevroglia.

Come punto di partenza, ed anche come termine di confronto, ho esaminato il cervello di un cane iniettato con siero di anitra normale. Quindi ho studiato il cervello dei cani iniettati col siero delle anitre preparate, ed ho esaminato non solo

i punti del cervello dove era stata fatta l'iniezione, ma anche diversi altri punti della corteccia, e poi il cervelletto, il ponte, la midolla allungata e la midolla spinale. Infine ho voluto vedere se in vitro il siero nevrotossico esercitasse qualche azione sulle cellule nervose.

Il materiale di studio fu freschissimo, essendo stato prelevato dagli animali appena morti per dissanguamento. La tecnica fu l'ordinaria: fissazione dei pezzi molto piccoli in sublimato alcoolico acetico, il cui eccesso fu in seguito allontanato con tintura di iodo iodurata (*Mayer*), inclusione in paraffina a 45°, colorazione con tionina o con tionina-eritrosina, spesso col miscuglio di *Biondi-Heidenhein*.

II. — 1. *Cane iniettato con siero normale* (IV esperimento, 6 giugno 1902). — Il cervello sia dal lato iniettato, sia dal lato sano è poco alterato. I capillari cerebrali sono spesso iperemici, ma non si constata migrazione leucocitaria ed infiltrazione interstiziale. I nuclei della nevroglia sono molto evidenti, e spesso se ne vedono alcuni disposti intorno alle cellule nervose. Queste presentano in massima parte prolungamenti, nucleo e nucleolo intatti; solo qua e là il protoplasma mostra le fasi iniziali della cromotolisi o plasmolisi secondo il *Colucci* (8).

2. *Cani iniettati con siero nevrotossico* (V esperimento, 13 maggio; VI esperimento, 20 maggio; VII esperimento, 28 maggio; XV esperimento, 25 giugno 1902). — Riassumerò in uno il quadro delle alterazioni, poco differente nei singoli esperimenti.

Nel cervello si nota una iperemia dei vasi meningei e dei capillari cerebrali, con una ricca infiltrazione leucocitaria; spesso i leucociti migrati formano come un mantello intorno ai capillari della corteccia. I nuclei della nevroglia sono in generale abbondanti e ben colorati. Leucociti e nuclei di nevroglia si vedono ammassati intorno alle cellule, spesso anche nel loro interno. Le cellule presentano le più svariate alterazioni, dalle più leggiere ed ancora riparabili, alle più gravi che implicano la morte della cellula stessa. Queste alterazioni non sono localizzate ad uno piuttosto che ad un altro strato della corteccia, ma sono diffuse più o meno a tutti. Esse consistono, per

quanto riguarda il citoplasma, nella cromatolisi nelle sue varie fasi, nella degenerazione ialina, fino al disgregamento granulare del protoplasma; per quanto riguarda il nucleo, nella vacuolizzazione con cariolisi o nella carioressi. In generale sia le alterazioni delle cellule nervose, sia quelle della trama connettivo-vascolare, sono più intense dal lato iniettato.

Dopo la corteccia cerebrale il ponte e la midolla allungata sono le sezioni più alterate. Esistono anche qua: notevole infiltrazione leucocitaria, proliferazione dei nuclei di nevroglia e diffuse alterazioni cellulari.

Nel cervelletto leggera cromatolisi delle cellule del *Purkinje*. Nella midolla spinale (sezioni alte) nulla di rilevante.

3. *Prova in vitro.* — Per saggiare in vitro l'azione del siero nevrotossico sugli elementi nervosi, prelevai da un cane, non ancora morto per dissanguamento, due dischi di midolla allungata, dello spessore di 2 mm. e li tenni per 3 ore nel termostato a 37°, uno in siero di anitra normale, l'altro in siero nevrotossico che si era, per iniezione ad un cane, dimostrato fortemente attivo. Ma all'esame istologico le cellule di entrambe le sezioni si mostrarono perfettamente integre. Anche qua constatai intorno alle cellule, addossati alla loro periferia, spesso dei nuclei di nevroglia.

III. Se noi consideriamo da un punto di vista generale le alterazioni trovate nel cervello dei cani iniettati col siero nevrotossico, riconosceremo facilmente in esse le note di un processo infiammatorio, contrassegnato da alterazioni vaso-connettivali, e da alterazioni cellulari: difatti abbiamo da una parte l'iperemia vasale, la migrazione leucocitaria con infiltrazione interstiziale e la proliferazione dei nuclei di nevroglia, dall'altra le svariate forme degenerative che d'ordinario si constatano nelle cellule nervose sotto l'azione delle diverse cause patogene. E se noi vogliamo, indipendentemente dai rapporti patogenetici che passano fra le une e le altre, rimontare alla causa di esse, dobbiamo senz'altro riconoscere nel siero delle anitre, immunizzate con sostanza nervosa, delle proprietà patogene verso il cervello dei cani, che il siero delle anitre normali non possiede. Le alterazioni infatti si potrebbero

attribuire al fatto meccanico della iniezione, ma abbiamo visto che nel cane iniettato col siero di anitra normale, malgrado la non piccola dose di siero adoperata, il cervello non ha presentato neppure dei fatti di un certo rilievo nella trama connettivo-vascolare. Di azione meccanica quindi non è a parlare, tanto più che tutti i cani di cui abbiamo esaminato il cervello, sia quello iniettato con siero di anitra normale, sia quelli iniettati col siero delle anitre preparate, hanno ricevuto la stessa dose di siero (0,5 cc. per kg.). Non rimangono allora che le qualità chimiche del siero stesso, le quali possano spiegare come la stessa dose abbia dato in un caso degli effetti trascurabili, ed in molti altri abbia costantemente destato un vero e proprio processo infiammatorio. In altri termini, lo studio delle alterazioni istologiche ci mena per altra via ad ammettere nel siero delle anitre immunizzate con la sostanza nervosa, la presenza di una neurotossina, dotata di azione patogena specifica verso il cervello degli animali che hanno fornito la sostanza nervosa immunizzante.

Circa poi le alterazioni che la neurotossina ha più specialmente provocato nelle cellule nervose, possiamo dire che esse non offrono nulla di caratteristico o di specifico, come era da prevedersi. In un altro mio lavoro (9) ebbi già ad accennare a questa assenza di specificità nelle alterazioni delle cellule nervose, e cercai di darne la spiegazione; senza volermi ripetere qui, dirò che lo studio delle alterazioni da neurotossina, è una ulteriore conferma delle mie spiegazioni d'allora.

E finirei a questo punto, se le mie ricerche non mi dessero l'opportunità di fare un'ultima considerazione sui rapporti fra leucociti migrati, nuclei della nevroglia e cellule nervose.

Uno dei fatti maggiormente notati nelle recenti ricerche sulle alterazioni sperimentali dei centri nervosi è la migrazione ed infiltrazione leucocitaria e la proliferazione dei nuclei della nevroglia, i quali si vedono spesso ammassati intorno alle cellule nervose, specie le più alterate, quando non si trovano addirittura nell'interno di esse in mezzo al protoplasma alterato. La spiegazione che ordinariamente si dà del fatto, è che esso sia l'esponente di una funzione fagocitaria nelle cellule

della nevroglia attiva quanto nei leucociti; il *Marinesco* (10) anzi credette opportuno designare senz'altro queste tali cellule col nome di neurofagi o neuronofagi. Ora, se il fatto è vero, la interpretazione, almeno in quanto concerne i nuclei di nevroglia, non credo sia esatta. E l'errore sta in ciò che gli osservatori avendo compiuto le loro ricerche su cervelli o sperimentalmente lesi o alterati per malattia, hanno senz'altro riferito al processo morboso tutte le note istologiche rilevate, epperò anche le cellule di nevroglia proliferanti ed i nuclei addossati alle cellule nervose che potevano esser la chiara dimostrazione di un processo fagocitario in atto.

In realtà le cose si passano un poco differentemente. Io ad esempio, ho trovato proliferazione dei nuclei di nevroglia e disposizione degli stessi intorno alle cellule nervose, dove più, dove meno, in tutti i cervelli dei cani iniettati con siero nevrotossico; ma ho trovato pure nuclei di nevroglia addossati alle cellule nervose o nel loro interno, non solo nel cervello dei cani iniettati con siero normale, ma anche nei due dischi di midolla allungata prelevati dal cane, che non aveva ricevuto iniezioni di sorta, e che furono lasciati in vitro nel siero. Queste osservazioni io non saprei metter d'accordo con le idee che abbiamo sulla fagocitosi; ed inclino sempre più a credere che il neurofagismo dei nuclei di nevroglia sia più una erronea interpretazione anzi che un fatto dimostrato. Tanto più che le mie osservazioni non sono sole da questo punto di vista, ma sono la conferma di quanto già da altri era stato osservato a questo proposito.

Anche a non tener conto dei lavori del *Paladino* (11), che mise così chiaramente in evidenza i rapporti normali fra elementi nervosi e nevroglici, il *Valenza* (12) in un lavoro sulla genesi degli elementi nervosi e nevroglici, vide in condizioni assolutamente normali dei nuclei di nevroglia non solo addossati, ma penetranti talvolta nelle cellule nervose integre sotto tutti i rapporti, e si levò giustamente contro l'errore di attribuire a funzione fagocitaria della nevroglia, quella che poteva esser condizione anatomica normale del cervello. Ora io ho avuto per caso l'opportunità di constatare ancora una volta

quanto il *Valenza* aveva già osservato, e mi è parso utile richiamarvi l'attenzione; perchè ancora recentemente il *Metchnikoff* (13) scriveva delle cellule nevrogliche « leur fonction phagocytaire est actuellement admise par un grand nombre d'observateurs », mentre i fatti non pare diano piena ragione a questo modo di vedere.

Pietroburgo, Settembre 1902.

Bibliografia.

1. Metchnikoff, Sur les cytotoxines. (Annales de l'Inst. Pasteur, n. 6, 1900).
— L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris, 1901.
2. London, Der gegenwärtige Stand der Lehre von den Cytolysinen und die cytolitische Theorie der Immunität. (Centr. f. Bak. Paras. u. Infek., No. 1 u. 2, 1902).
3. Delezenne, Serums nevrotoxiques. (Annales de l'Inst. Past., n. 10, 1900).
4. Centanni, Il neurosiero: siero distruttore e siero protettore pel sistema nervoso. (Riforma medica, vol. IV, 1900), citato in:
5. Ravenna, Osservazioni intorno ai sieri citotossici con speciale riguardo al neurosiero. (Riforma medica, vol. II, 1902).
6. Ehrlich u. Sachs, Ueber die Vielheit der Komponente des Serums. (Berl. klin. Wochen., No. 14 u. 15, 1902).
— u. Morgenroth, Zur Theorie der Lysinwirkung. (Ibid., No. 1, 1899).
7. Metchnikoff, L'immunité, pag. 582.
8. Colucci, Contribuzione alla istologia patologica della cellula nervosa in alcune malattie mentali. (Giorn. della Ass. Nap. dei Med. e Natur., anno VII, 1897).
9. Pirone, Ueber Veränderungen der Nervenelemente bei verschiedenen Infektionen. (Wiener Med. Woch., No. 21, 1900).
10. Marinesco, Lésions des centres nerveux par la toxine du bacillus botulinus. (Soc. de Biol., Comp. Rend., Tome III, 1896).
— (XII Cong. Inter. de Méd. de Moscou, in Sem. médicale, 1897).
— (XIII Cong. Inter. de Méd. de Paris. Ibid., 1900).
11. Paladino, Dei limiti precisi tra il nevroglio e gli elementi nervosi del midollo spinale e di alcune delle quistioni istò-fisiologiche che vi si riferiscono. (Boll. della R. Acc. Med. di Roma, Fasc. II, 1893 e Arch. Ital. de Biol., Tome XXII, 1895).
12. Valenza, Nuove ricerche sulla genesi degli elementi nervosi e nevroglici e sul loro reciproco rapporto. (Gior. della Ass. Napol. dei Med. e Natur., anno IX, 1899).
13. Metchnikoff, L'immunité, pag. 80.

Clinica Medica Pediatrica di Firenze, diretta dal Prof. G. Mya.

UN CASO DI PRODUZIONE SOTTOLINGUALE

CON ABBONDANTE ACCUMULO DI CELLULE EOSINOFILE FRA GLI ELEMENTI DEL TUMORE.

OSSERVAZIONI

DEL

DOTT. UGO FRIZZONI.

(Con 1 tavola a colori).

Nella Clinica Medica Pediatrica di Firenze, ebbi occasione di esaminare dal punto di vista istologico un piccolo tumore sottolinguale, conosciuto comunemente sotto il nome di « produzione sottolinguale » o morbo di *Riga*, il quale era stato esportato con un colpo di forbici ad un bambino di sette mesi, presentatosi all'ambulatorio della Clinica. Il piccolo paziente non aveva nè stomatite nè aveva mai sofferto disturbi di sorta; era allattato dalla madre che aveva latte abbondante; presentava uno stato di nutrizione ottimo senza tracce di rachitismo. Dal margine gengivale inferiore sporgevano i due incisivi mediani. Potei accertare che nè la madre nè i fratelli del bambino ebbero a soffrire dello stesso male.

Il tumore era sessile situato alla base del frenulo linguale; aveva la grossezza di un grano di maiz, era piuttosto duro, indolente, aveva colorito biancastro. La sua superfice era liscia, levigata; però nella parte inferiore appariva leggermente ulcerata.

Dirò incidentalmente che trattandosi di un malato di ambulatorio non mi fu possibile fare l'esame del sangue.

Seppi poi che il tumore si riprodusse quindici giorni dopo l'esportazione. Dopo qualche tempo andò spontaneamente regredendo; cinque mesi più tardi, quando il bambino compiva un anno di età, era quasi interamente scomparso. Il bambino era sempre stato nutrito con latte materno, si trovava in ottime condizioni di nutrizione e non aveva mai avuto nessun disturbo.

I pezzi di questo tumore vennero fissati in sublimato corrosivo ed in liquido di *Flemming*. L'esame microscopico delle sezioni diede il seguente reperto:

Alla periferia del tumore, eccettuato s'intende il punto ove esso era aderente alla mucosa linguale e dove si presentava ulcerato, esistono parecchi strati sovrapposti di epitelio pavimentoso dello spessore complessivo di circa $^1/_2$ mm. Gli elementi più superficiali sono appiattiti e allungati e presentano alle volte dei vacuoli in cui è contenuta una sostanza amorfa rifrangente facilmente colorabile coi colori protoplasmatici. I nuclei in qualche elemento non si vedono affatto, in altri sono atrofici e raggrinzati per modo che tutto all'intorno lasciano vedere una zona perinucleare che li separa dal protoplasma cellulare. Gli elementi degli strati più profondi sono meno appiattiti e non presentano nulla di anormale. Finalmente l'ultimo strato di cellule, che corrisponde allo strato basale del reticolo malpighiano della cute, è costituito da elementi più piccoli col massimo diametro disposto nel senso verticale. In questo strato e in qualche punto anche in quelli direttamente sovrapposti, si notano parecchi elementi il cui nucleo è in mitosi presentando alle volte la forma del monaster o del diaster. In tutti gli strati epiteliali, ma in modo speciale in quelli medi, sono assai evidenti gli spazi intercellulari colle spine descritte da *Bizzozero*.

Il tessuto immediatamente al disotto degli strati epiteliali, che si potrebbe paragonare al derma della cute, è costituito da sottili fasci di connettivo che s'intrecciano fra di loro e in cui stanno sparsi numerosi elementi connettivali. Esso si protende in direzione raggiata sotto forma di papille nel tessuto epiteliale, il quale a sua volta manda lunghe

propaggini nel derma sottostante. In esso si notano inoltre numerosi vasi contenenti globuli rossi e qualche globulo bianco, e spazi linfatici tappezzati da endotelio. Negli strati più profondi, in vicinanza del punto ove il tumore aderiva alla mucosa linguale, l'intreccio delle fibre connettive si fa sempre più fitto. Non vi si osservano fibre muscolari nè elementi ghiandolari. Inoltre, specialmente nelle parti superficiali del derma, si nota una ricca infiltrazione di elementi prevalentemente polinucleati, i quali però non si limitano a questo tessuto ma invadono anche il tessuto epiteliale, dove occupano gli spazi intercellulari. Ma ciò che più colpisce, esaminando i preparati colorati con eosina, è che gran parte di tali elementi contiene nel suo protoplasma numerose grosse granulazioni rifrangenti colorate dall'eosina, vale a dire, sono elementi eosinofili. Queste cellule posseggono un nucleo intensamente colorato, il quale appare per lo più doppio o polimorfo, qualche volta anche unico e rotondo; non si scorgono però nuclei in mitosi. Esse si trovano specialmente numerose appena al di sotto dello strato papillare frammisti agli altri elementi connettivali (Fig. I). Qualche elemento eosinofilo, simile a quelli sopra descritti, si trova anche nei vasi. Nelle papille il loro numero non è più così considerevole; però, come già dissi, essi non si arrestano al derma, ma si spingono oltre nell'epitelio passando, fra le cellule dello strato basale, negli spazi intercellulari, fino a raggiungere, in numero esiguo però, gli strati più superficiali del tumore (Fig. II). Alternati con questi elementi, negli spazi intercellulari si scorgono altri elementi polinucleati senza granulazioni distinte nel loro protoplasma e qualche globulo rosso.

Nel punto ove il tumore si presentava ulcerato mancano gli strati epiteliali. Il derma rimasto scoperto, per la presenza di numerose cellule connettivali giovani, si trova allo stesso livello del tessuto epiteliale integro, da cui non è separato che da un solco molto stretto, ma profondo, e mostra una ricca infiltrazione di elementi polinucleati, di cui nessuno contiene però granulazioni eosinofile. Gli elementi più superficiali sono caduti in parte in necrosi. Si notano inoltre nu-

merosi globuli rossi, sia frammisti agli elementi connettivali, sia nei capillari sanguinei, che in questo punto sono più numerosi ed anche più ampi.

I preparati colorati col metodo di *Weigert* per la fibrina mostrano che gli elementi epiteliali più vicini allo strato papillare sono circondati da una sottile rete di fibrina che corrisponde agli spazi intercellulari; questa manca in vicinanza della superfice del tumore. Nello strato papillare non si osserva fibrina; si nota invece un discreto numero di elementi a granuli basofili (mastzellen), i quali non si trovano invece più profondamente verso la base del tumore, e nemmeno là dove è ulcerato. Quivi la precipitazione della fibrina è abbondante ed irregolare specialmente in vicinanza alla periferia fra gli elementi caduti in necrosi. In questi preparati, ma ancor più in quelli colorati col liquido di *Löffler*, si nota in corrispondenza della superfice del tumore un deposito più o meno abbondante di bacteri. Si tratta di forme brevi bacillari disposte a due a due o a catena (diplobacilli e streptobacilli) che non resistono alla colorazione col metodo di *Kütscher*, modificazione di quello di *Gram*, di ammassi di cocchi (stafilococchi) e di qualche sarcina. Questi bacteri, dove il tumore conserva il suo rivestimento epiteliale integro, non si trovano che aderenti allo strato più superficiale; nel punto invece dove si presenta ulcerato si approfondano in mezzo agli elementi connettivali giovani e al tessuto necrosato in fitti ammassi costituiti prevalentemente da stafilococchi. È evidente che vi sono penetrati dall'esterno.

La descrizione istologica di questo tumoretto non lascia dubbi che si ha a che fare con una neoformazione di natura mista connettivale ed epiteliale da ascriversi alla categoria dei papillomi molli.

Tale neoformazione venne osservata per la prima volta nel 1857 da *Urbano Cardarelli*, che la chiamò afta cachetica; più tardi venne studiata, però soltanto dal lato clinico, da *Pandolfi*, *De Marinis*, *Riga* e *Somma*, i quali diedero i più disparati giudizi sulla natura, eziologia e gravità di tale affezione. Le prime ricerche istologiche vennero eseguite da *Fran-*

cesco Fede che ne riferì i risultati al I Congresso pediatrico italiano a Roma (1890). Egli tracciò pure il profilo clinico di questo tumoretto e, negando ad esso ogni attributo di processo infettivo, ne ridusse l'importanza alle modeste proporzioni di un fatto locale determinato dall'attrito dei due denti incisivi mediani inferiori. Sotto il nome di « produzione sottolinguale » datole da *F. Fede* o morbo di *Riga*, fu poi in seguito argomento di parecchie pubblicazioni e di comunicazioni, di cui due anche recentemente al IV Congresso pediatrico italiano a Firenze da parte di *F. Fede* e di *F. Guida*.

Nel presente lavoro tralascerò di occuparmi dell'eziologia e del decorso clinico di tale neoformazione, su cui non avrei nulla da aggiungere a quanto venne già pubblicato da altri autori, e mi limiterò ad illustrare un fatto, che credo fino ad ora non sia ancor mai stato osservato, cioè l'accumulo di numerosi elementi eosinofili, come risulta dal reperto istologico sopra descritto.

Però innanzi di passare a trattare di ciò voglio ancora fermarmi su due altri punti che meritano speciale considerazione. Il primo è che dove il tumore era ulcerato, lasciando a nudo il derma, si aveva un tessuto connettivale giovane ricco di elementi e di vasi sanguinei, cioè un vero tessuto di granulazione. Questo fatto spiega perchè da alcuni autori, ancor recentemente, la produzione sottolinguale venne descritta come una neoformaziene d'origine infiammatoria, vale a dire come un granuloma, mentre altri la considerano come un papilloma. È evidente che questo giudizio così disparato dipende dall'aver esaminato il tumore in diverse fasi della sua evoluzione. Fino a che esso conserva ancor integro il suo rivestimento epiteliale, la sua struttura corrisponde a quella di un papilloma molle Più tardi, come avviene frequentemente, ulcerandosi la soluzione di continuo vien sostituita da tessuto di granulazione, per cui prende l'aspetto di un granuloma. Nel caso presente i due fatti erano contemporanei ma ben distinti onde riuscì evidente la loro dimostrazione. Il secondo punto è la precipitazione di fibrina, già descritta da *F. Fede* sino del 1892, fra le cellule epiteliali degli strati rimasti in-

tegri, ma specialmente abbondante nel punto ove il tumore era ulcerato. Io credo che essa non sia altro che l'indice della continua irritazione meccanica cui è sottoposto il tumore a causa della sua sede anatomica. Ma essa acquista importanza in quanto che può avvenire che, in fasi più avanzate, la parte ulcerata e necrosata del tumore sia interamente ricoperta da essudato fibrinoso, e si spiega quindi perchè quest' affezione venne da alcuni interpretata come una produzione difterica e persino curata in base a ciò con iniezioni di siero antidifterico.

Quanto al reperto di cellule basofile (*mastzellen*) fra gli elementi delle papille, questo non è un fatto nuovo nelle affezioni delle mucose e della pelle. Come dirò in seguito, si può ammettere che esse derivino direttamente per metamorfosi dagli elementi fissi del connettivo papillare.

E ora cerchiamo di spiegare la presenza delle numerose cellule eosinofile trovate fra gli elementi del tumore.

Entrando subito in argomento credo sia utile ricordare come in casi di malattie acute e croniche della pelle si rinvenga spesso un aumento anormale di cellule eosinofile nel sangue circolante. Il loro numero in un caso di orticaria molto estesa, descritto da *A. Lazarus*, raggiunse il 60 % dei leucociti del sangue. *Canon*, in casi di prurigo e di psoriasi, ne contò sino a 17 % e osservò inoltre che il loro aumento non è tanto in rapporto al genere di malattia o alla sua intensità locale come alla sua estensione. In un caso di pemfigo vennero trovate per la prima volta da *Neusser* in numero considerevole tanto nel sangue come nelle vescicole, il cui contenuto era quasi esclusivamente costituito da cellule eosinofile. *Gollasch* trovò pure che nell'asma bronchiale il numero delle cellule eosinofile è costantemente aumentato e oscilla nei rapporti da 10 % a 20 % cogli altri elementi bianchi del sangue. A questo reperto si aggiunse quello di *Adolfo Schmidt* che le trovò in grande numero tanto nello sputo, quanto in piccole porzioni di mucosa nasale (escisa) di ammalati d'asma bronchiale, mentre lo stesso fatto non si verificò mai nelle ricerche eseguite dallo stesso autore sul secreto bronchiale di ammalati di leucemia mielogena in cui il sangue è pure ricco di

elementi eosinofili. Anche *Leyden* li trovò in numero considerevole nel secreto mucoso in un caso di corizza acuta, e *Benno Lewy* nel tessuto di un papilloma del cornetto inferiore, esportato ad un paziente che non soffriva d' asma, senza che il loro numero apparisse aumentato nel sangue circolante. Esiste dunque uno stretto rapporto fra certe affezioni della pelle e delle mucose ed il reperto di numerose cellule eosinofile in questi tessuti alterati o nei loro prodotti patologici, senza che lo stato del sangue vi partecipi direttamente.

Basandomi su tale conclusione, per consiglio del professor *Mya* cercai se anche in altri tumori, di natura simile a quella della produzione sottolinguale esistesse il medesimo fatto. Le mie ricerche vennero eseguite sopra certi papillomi duri a cavolofiore della laringite verrucosa, asportati coll' apparecchio abrasore di *Monselles* all' ambulatorio della Clinica Pediatrica di Firenze. All' esame microscopico di questi tumoretti, che nella loro struttura ricordano quella della produzione sottolinguale, benchè il tessuto epiteliale vi si trovi in prevalenza, trovai costantemente, tanto nei vasi come nel derma papillare, un accumulo alquanto anormale di elementi eosinofili. Esso non raggiunse però mai proporzioni così considerevoli come nel caso della produzione sottolinguale dianzi descritto e non mi riuscì mai di vedere cellule eosinofile nel tessuto epiteliale. Bisogna però notare che si trattava spesso di tumori più piccoli di un grano di miglio in cui quindi il campo di osservazione era assai ridotto, tanto più poi per il prevalere del tessuto epiteliale sul connettivo. Inoltre in questi casi la distribuzione e rigenerazione degli elementi epiteliali, come dimostravano le relativamente scarse mitosi, doveva esser lieve e quindi era per lo meno deficente la sostanza cui credo si debba attribuire, per quanto dirò in seguito, l' accumulo di elementi eosinofili nel caso della produzione sottolinguale.

Per dare una spiegazione alla presenza di queste numerose cellule eosinofile nel tumoretto sopradescritto, non si possono ammettere che due ipotesi, e cioè, che essa sia dovuta ad una moltiplicazione in sito di elementi preesistenti oppure sia

dovuta ad un accumulo di tali elementi per chemiotassi positiva sul sangue circolante.

La prima di tali ipotesi è quella accettata da *Adolfo Schmidt* per spiegare il numero così considerevole di elementi eosinofili trovati nel secreto bronchiale di ammalati d'asma. Egli cioè attribuisce loro un' origine locale lungo le vie respiratorie e ritiene che l'eosinofilia, che si riscontra costantemente in questi casi, sia dovuta all' emigrare di questi elementi dai loro focolai di produzione nel sangue circolante, vale a dire sia un fatto secondario.

Questa moltiplicazione locale si potrebbe spiegare in tre modi:

1° Le cellule eosinofile potrebbero provenire per successive metamorfosi dagli elementi normali del connettivo. Questa spiegazione si potrebbe accettare per analogia a ciò che avviene per le *mastzellen*, le quali si ammette che, oltre che riprodursi normalmente nel midollo osseo, possano originarsi da una metamorfosi degli elementi fissi del connettivo. Ora, secondo *Ehrlich*, l' origine delle cellule basofile (*mastzellen*) al di fuori del midollo osseo si può ammettere perchè, per le ricerche di *Canon*, venne dimostrato che in quei casi in cui si trova un aumento notevolissimo di *mastzellen* nei tessuti interessati dal processo morboso (malattie croniche della pelle, elefantiasi, induramento bruno del polmone), il loro numero non è punto aumentato nel sangue circolante. Ciò non avviene invece per le cellule eosinofile che, in casi di affezioni della pelle o delle mucose, si trovano quasi sempre in aumento nel sangue circolante, e, come osservò *Canon*, in numero tanto più considerevole quanto maggiore è l' estensione del processo morboso. L' ipotesi di una metamorfosi progressiva degli elementi fissi del connettivo in cellule eosinofile non ha dunque alcun fatto in suo appoggio.

2° Le cellule eosinofile potrebbero provenire dai polinucleati neutrofili, che generalmente affluiscono numerosi là dove esiste un agente irritante. Si dovrebbe perciò ammettere con *Müller* e *Rieder* che le cellule eosinofile del sangue provengano dai leucociti neutrofili per una specie di matura-

zione. Questa ipotesi, per gli elementi del sangue circolante, venne combattuta da *Ehrlich* e *Lazarus*, i quali osservarono che non vennero mai dimostrate forme di passaggio fra gli elementi polinucleati a granuli neutrofili ed elementi polinucleati a granuli eosinofili del sangue circolante, e che per di più questi ultimi hanno i loro naturali elementi di origine nelle cellule mononucleate eosinofile del midollo osseo. Gli stessi argomenti si possono addurre, secondo me, per combattere tale ipotesi in questo caso speciale.

3° Le cellule eosinofile potrebbero provenire dal rapido moltiplicarsi di elementi eosinofili trasportati dal sangue nei tessuti. Se però così fosse non dovrebbero mancare numerose mitosi e forme di passaggio mononucleate, le quali normalmente non si riscontrano nel sangue circolante. Queste però non vennero mai trovate nemmeno da *Adolfo Schmidt* per quante diligenti ricerche egli facesse sul secreto bronchiale di ammalati d'asma per trovare un appoggio alla sua ipotesi di una moltiplicazione locale degli elementi eosinofili. Nel tumore sopradescritto, come si può vedere anche nelle figure, sebbene non esistessero mitosi, non mancavano veramente elementi eosinofili con un unico nucleo rotondo intensamente colorato. Tali elementi (se pure il loro aspetto mononucleato non era l'effetto di un fatto artificiale dovuto alla preparazione) sono ben lungi da esser confusi con gli elementi eosinofili mononucleati del midollo osseo, che sono molto più grandi e hanno un nucleo reniforme che si colora debolmente. Dunque anche quest'ultima spiegazione, per quanto si è detto, non può venir accettata.

Non voglio però escludere che in casi speciali gli elementi eosinofili possano moltiplicarsi al di fuori del midollo osseo. In un caso di anemia splenica a tipo infantile, che si trasformò poi in leucemia mielogena e che mi fu argomento di un altro lavoro, potei dimostrare nel fegato e nella milza, in cui si notava una ricchissima infiltrazione di elementi midollari, la presenza di veri nidi di mielociti eosinofili, per cui dovetti ammettere che questi elementi provenienti dal midollo osseo avessero conservato la loro proprietà di moltiplicarsi al di fuori di esso.

Venendo ora all'altra ipotesi, quella cioè di un accumulo locale di elementi eosinofili per chemiotassi positiva sul sangue circolante, essa fu sostenuta da *Ehrlich* e *Lazarus* per spiegare come nel caso (già citato) di pemfigo, descritto da *Neusser*, il contenuto delle vescicole fosse costituito quasi esclusivamente da elementi eosinofili. Secondo questi autori nelle vescicole del pemfigo esiste una sostanza che ha il potere di attirare per chemiotassi le cellule eosinofile dal sangue circolante. Se la malattia è poco estesa la costituzione del sangue non ne vien punto alterata. Ma, appena che la malattia piglia una più vasta estensione, questa sostanza entra in circolo per assorbimento e per diffusione, e agendo direttamente, sempre per chemiotassi sul focolaio d'origine delle cellule eosinofile, cioè sul midollo osseo, provoca un maggior ingresso in circolo di questi elementi. Il midollo è quindi indirettamente eccitato ad una maggior produzione di tali elementi, e, durando la malattia, acquista la proprietà di mantenere tale eosinofilia. Che l'accumulo di elementi eosinofili nelle vesciche del pemfigo sia legato ad un agente irritante specifico, lo prova la stessa osservazione di *Neusser*, il quale nel medesimo soggetto ottenne con un vescicante, quindi con un agente irritante non specifico, una vescica il cui contenuto era costituito esclusivamente dai comuni elementi polinucleati neutrofili del pus.

Il concetto di *Ehrlich* e *Lazarus* si può applicare tanto all'asma bronchiale, in cui l'eosinofilia è un fatto costante, quanto a quei processi locali poco estesi interessanti le mucose (corizza, papillomi nasali) in cui la composizione del sangue rimane inalterata. A questi casi io credo si debba aggiungere quello dianzi descritto dalla produzione sottolinguale in cui si verificarono le medesime condizioni.

Stabilire di che natura sia questa sostanza capace di attirare per chemiotassi gli elementi eosinofili, non è cosa tanto facile. Però io credo che sia da escludere per essa un'origine bacterica, perchè, anche prescindendo dal fatto che le ricerche bacteriologiche diedero sempre risultati negativi tanto nell'asma bronchiale come nel pemfigo, orticaria ecc., è ormai accertato che le tossine bacteriche finora conosciute agi-

scono sugli elementi polinucleati eosinofili per chemiotassi negativa respingendoli. Ciò si osserva comunemente nel periodo acuto delle malattie infettive, in cui al momento del massimo ingresso in circolo di elementi polinucleati neutrofili, sui quali, come è noto, i prodotti bacterici agiscono per chemiotassi positiva, corrisponde una diminuzione degli elementi eosinofili. Nel caso della produzione sottolinguale questo diverso comportarsi dei globuli bianchi neutrofili ed eosinofili di fronte ai prodotti bacterici era ancor più evidente. Infatti là dove il tumoretto era ulcerato e aveva quindi permesso l'ingresso a bacteri, i quali non si arrestavano alla periferia del tumore, ma vi si addentravano profondamente in fitte colonie, e dove in mezzo agli elementi caduti in necrosi più fitta era l'infiltrazione di elementi polinucleati neutrofili, quivi le cellule eosinofile mancavano completamente. A me sembra anzi che, dato che si possa dimostrare che l'accumulo di elementi eosinofili sia un fatto costante nella produzione sottolinguale, si debba senz'altro rigettare l'ipotesi, da molti sostenuta, che tale neoformazione abbia un'origine bacterica.

Io credo quindi con *Ehrlich* e *Lazarus* che questa sostanza non sia altro che il prodotto di una distruzione degli elementi epiteliali, facilmente dimostrabile in tutti quei casi in cui l'aumento di elementi eosinofili è legato ad un'affezione della pelle o delle mucose. Nella produzione sottolinguale, l'esistenza di numerose mitosi fra gli elementi del tessuto epiteliale è la prova migliore di un continuo distruggersi e riprodursi di tali elementi favorito dall'attrito fra la superfice del tumore ed il margine tagliente dei due incisivi mediani inferiori; nulla si oppone quindi ad accettare l'ipotesi di *Ehrlich* e *Lazarus*. In conclusione io credo:

1° Che un accumulo di elementi eosinofili nei tessuti della produzione sottolinguale, più o meno considerevole, come si verificò nel caso sopradescritto e nei papillomi duri della laringite verrucosa, si debba poter dimostrare in tutti quei casi in cui questa neoformazione, conservando integro il suo rivestimento epiteliale, ha potuto opporre una barriera all'invasioni bacteriche dall'esterno.

2° Che tale accumulo di elementi eosinofili sia l'effetto di un richiamo di questi elementi dal sangue circolante per chemiotassi positiva.

3° Che l'agente specifico di tale chemiotassi sia il prodotto della distruzione degli elementi epiteliali, distruzione che vien favorita dal continuo attrito cui viene sottoposta questa neoformazione a cagione della sua sede anatomica.

Bibliografia.

1. F. Fede, Della produzione sottolinguale o malattia del Riga. (Atti del Primo congresso pediatrico italiano, pag. 251).
2. — La produzione sottolinguale dell'infanzia. (Atti del Secondo congresso pediatrico italiano, pag. 237).
3. F. Fede e T. Guida, Della produzione sottolinguale nei bambini. (Atti del Quarto congresso pediatrico italiano, pag. 317 e 318).
4. D. Cappuccio, Tre casi di produzione sottolinguale o malattia di Riga. (La Pediatria, 1901, n. 4).
5. Ehrlich u. Lazarus, Die Anaemie. (I Abtheilung. Normale und pathologische Histologie des Blutes).
6. Canon, Ueber eosinophile Zellen und Mastzellen im Blut Gesunder und Kranker. (Deutsche med. Wochenschrift, 1892, No. 10).
7. Neusser, Klinisch-haematologische Mittheilungen (Pemphigus). (Wiener klin. Wochenschrift, 1892, No. 3 u. 4).
8. Gollasch, Zur Kenntnis des asthmatischen Sputums. (Fortschritte der Medicin, 1889, Bd. 7).
9. A. Schmidt, Demonstration mikroskopischer Präparate zur Pathologie des Asthma. (Congress für innere Medicin).
10. A. Schmidt, Zur Kenntnis des Asthma bronchiale. (Centralblatt für innere Medicin, 1891, No. 25).
11. E. Leyden, Ueber eosinophile Zellen aus dem Sputum von Bronchialasthma. (Deutsche med. Wochenschrift, 1891, No. 38).
12. Benno Lewy, Ueber das Vorkommen der Charcot-Leyden'schen Krystalle in Nasentumoren. (Berliner klin. Wochenschrift, 1891, No. 33 u. 34).
13. H. F. Müller u. Rieder, Ueber Vorkommen und Klinische Bedeutung der eosinophilen Zelle im circulierenden Blut des Menschen. (Deutsches Archiv für klin. Medicin, Bd. 48).
14. U. Frizzoni, Anemia splenica e leucemia. (Lo Sperimentale (Archivio di Biologia normale e patologica), Anno 56, Fasc 4).

Spiegazione delle figure.

Figura 1. — Porzione del connettivo del derma appena al disotto dello strato papillare. Ricca infiltrazione di cellule eosinofile.

Figura 2. — Parte periferica di una papilla del derma rivestita dagli strati più profondi dell'epitelio. Cellule eosinofile fra gli elementi epiteliali.

Fig. 1

Fig. 2

Laboratorio di Patologia Generale della R. Università di Cagliari.

SULLE DIFFERENZE FISICO-CHIMICHE

TRA I PROTOPLASMI VIVENTI E MORTI [1]

DI

G. GALEOTTI.

Lo studio dei fenomeni elementari che si svolgono nella sostanza viva, la quale noi designamo ancora col nome generico di protoplasma, è certo l'argomento più alto e più interessante della biologia generale. A tal fine è indispensabile una perfetta conoscenza dello stato fisico-chimico della sostanza vivente e sovra tutto è necessario determinare le variazioni, che intervengono durante il passaggio del protoplasma dalla vita alla morte.

È una nozione comune e volgare che lo stato di un corpo vivo sia essenzialmente differente dallo stato in cui il corpo passa subito dopo la morte, malgrado che si conservino identiche molte delle sue apparenze organolettiche, dimodochè in certi casi risulta difficile o anche impossibile determinare se un corpo è vivo o morto. Ed ancor oggi assai poco sappiamo delle differenze intime che si producono nella sostanza fondamentale degli organismi durante la morte, prima che subentrino le profonde disorganizzazioni a cui le sostanze organizzate inerti vanno incontro nel progresso del tempo.

Quindi gli stati di vita e di morte son per ora definiti soltanto in modo volgare, incompleto ed incerto; ed una deli-

[1] Da una comunicazione fatta nella 1ª Adunanza della Società Italiana di Patologia in Torino, il 3 ottobre 1902.

mitazione tra la vita e la morte (per il protoplasma s'intende) perfetta ed intiera, potremo ottenerla soltanto dalla conoscenza di tutte le differenze, che vengono a stabilirsi tra queste due condizioni dei corpi organizzati.

Tale è stato ed è ancora l'oggetto delle ricerche che da qualche anno ho intrapreso e di cui andrò riassumendo adesso i risultati, dopo aver posto però una questione preliminare.

La ipotesi più semplice che possiamo fare sulla costituzione del protoplasma è questa: che esso debba considerarsi come una soluzione acquosa di colloidi, di non elettroliti e di elettroliti, e quindi una porzione elementare di protoplasma, non contenente membrane semipermeabili, costituirebbe un sistema monofasico. Per quanto esistano molti argomenti in appoggio a tale semplice ipotesi, tuttavia non siamo autorizzati ad escludere l'altra, che cioè i protoplasmi viventi siano costituiti da un numero molteplice di fasi; il che, come è chiaro, complicherebbe assai i problemi che ci interessa trattare.

In ogni modo tale questione ha una importanza fondamentale per la conoscenza dei fenomeni vitali elementari, e ad essa sono subordinati i problemi più ardui della biologia, cioè quelli che si riferiscono alla determinazione degli stati stazionari e degli equilibri tra i protoplasmi e l'ambiente o tra le varie fasi protoplasmatiche, data la loro molteplicità nella struttura della sostanza vivente.

Da queste determinazioni soltanto potrebbe risultare la spiegazione dei fenomeni più misteriosi che si compiono negli organismi, come quelli del ricambio, dell'accrescimento, della reazione agli stimoli ecc. Ma tali quesiti sono, nello stato presente della scienza, tanto difficili ed elevati che sembra per ora impossibile non solo sottoporli alla prova sperimentale, ma anche formularli in modo determinato.

Dobbiamo quindi limitarci a trattare problemi di un ordine inferiore e, ponendo l'ipotesi più semplice e più intuitiva, considerare il protoplasma come una soluzione nel senso sovra accennato, studiare in questa le proprietà delle soluzioni e vedere come esse si modifichino quando, perdute le qualità della vita, il protoplasma diviene un complesso inerte di

colloidi e di cristalloidi, simile ad una miscela artificiale qualsiasi.

In tal riguardo io ho preso in esame le principali tra le proprietà delle soluzioni che generalmente interessa di determinare e cioè:

1° I processi di diffusione attraverso il protoplasma;

2° La migrazione di ioni;

3° Le variazioni di volume per l'azione di forze osmotiche;

4° La concentrazione degli ioni nel protoplasma;

5° La concentrazione molecolare totale.

Il metodo seguito in tutte queste ricerche è stato semplicemente quello di eseguire misurazioni fisico-chimiche su cellule o su tessuti viventi e poi di ripetere queste, nelle identiche condizioni, sovra gli elementi medesimi, dopochè mi ero potuto assicurare, o direttamente o per qualche via indiretta, che in essi era cessata la vita.

Le mie ricerche sulla diffusione attraverso i corpi viventi furono fatte alcuni anni addietro [1] con cellule distaccate, immerse in soluzioni coloranti.

Potei così osservare che le molecole coloranti non invadevano affatto i protoplasmi cellulari, mentre la loro diffusione cominciava appena era avvenuta la morte delle cellule stesse. L'impedimento alla penetrazione delle molecole coloranti era più certo e manifesto quando le sostanze coloranti medesime avevano proprietà tossiche: quindi io concludeva che i protoplasmi viventi si oppongono, mediante meccanismi sconosciuti, alla diffusione di sostanze incongrue nella loro compagine, mentre, appena il protoplasma è morto, la diffusione avviene in esso come in qualsiasi altro colloide, cioè secondo la legge di *Fick*. Vediamo dunque in questo primo caso che i protoplasmi viventi non obbediscono ad un principio, che si verifica per tutti gli altri corpi non viventi, costituiti in modo da render possibile la diffusione.

---

[1] *Sulla colorabilità delle cellule viventi.* (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie, 1894).

A questi resultati altri si ricollegano da me più recentemente ottenuti [1], che riguardano la capacità di migrazione degli ioni attraverso strati cellulari. Determinavo queste capacità migratorie misurando la resistenza elettrica di una celletta elettrolitica, tra i cui elettrodi era interposta una membrana animale. Il rapporto tra la resistenza di questo sistema e la resistenza della celletta medesima senza membrana era una misura della difficoltà che avevano gli ioni a traversare gli strati protoplasmatici interposti tra gli elettrodi, o, in altre parole, una misura della diminuzione della capacità migratoria degli ioni operata dai protoplasmi.

Da molte misurazioni, fatte or con membrane viventi or con membrane uccise mediante il cloroformio, resultò che certe cellule son capaci di opporsi validamente alle tendenze migratorie degli ioni, mentre questo impedimento si riduce a valori piccolissimi o quasi si annulla, allorchè muoiono le cellule di cui le membrane sono composte. Anche in questo caso insomma sussistono nelle condizioni di vita del protoplasma, certi fattori i quali modificano i movimenti degli ioni diretti dalle cariche elettrostatiche degli elettrodi, e questi fattori scompaiono allorchè il protoplasma muore.

E come in questi casi il protoplasma vivente è capace di modificare i movimenti di molecole disciolte, così in altri esso può modificare i movimenti di molecole del solvente (acqua), in guisa che non avvengano variazioni di volume dei corpi protoplasmatici sotto l' influenza di forze osmotiche attive. In altre parole il protoplasma vivente è capace di impedire lo stabilirsi dell' equilibrio osmotico tra soluzioni di differente concentrazione separate da una membrana semipermeabile. L' equilibrio invece si stabilisce allorchè il protoplasma è morto. Tali osservazioni furono da me fatte su spermatozoi e su cellule di spirogire [2]. Potei infatti constatare che sper-

---

(1) *Sulla permeabilità delle membrane animali.* (Lo Sperimentale, 1901. V. anche Zeitschr. f. physikalische Chemie, 1901).

(2) *Sulle proprietà osmotiche delle cellule.* (Rivista di Scienze Biologiche, 1900).— *Ueber die Wirkung kolloidaler und elektrolytisch dissozürter Metalllösungen auf die Zellen.* (Biologisches Centralblatt. Vol. XXII, 1901).

matozoi di vari animali, posti in soluzioni di concentrazione molecolare differente da quella che rappresenta l'ambiente normale di tali cellule, non subivano modificazioni di volume (nè ingrandimento se posti in soluzioni ipotoniche, nè impiccolimento se posti in soluzioni ipertoniche) finchè eran capaci di movimento. Poco dopo che i loro movimenti eran cessati, avveniva la modificazione del loro volume secondo le leggi dell'osmosi.

Per le cellule di spirogire osservai che esse posson vivere benissimo non solo nell'acqua distillata, ma anche in un'acqua estremamente pura, e di bassissima conducibilità elettrica, cioè quasi priva di elettroliti: eppure il contenuto di queste cellule ha una concentrazione considerevole! La deformazione dei protoplasti di queste cellule non avviene sinchè esse sono viventi, ma se si aggiunge all'acqua una sostanza tossica, anche in quantità imponderabili, allora si stabilisce subito l'equilibrio osmotico con le deformazioni caratteristiche che sono state descritte da tanti sperimentatori.

Passiamo adesso alle questioni sulla concentrazione nel protoplasma. Per riguardo alla concentrazione degli ioni io ho ripetutamente tentato di fare determinazioni dirette, secondo la teoria delle pile di concentrazione, misurando il salto del potenziale in corrispondenza del contatto con elettrodi di varia natura o con soluzioni di concentrazione conosciuta. Tuttavia questi tentativi non hanno dato per ora resultati soddisfacenti, mentre resultati assai più precisi furono da me ottenuti mediante la determinazione della conducibilità elettrica specifica di vari tessuti [1], la quale con adatto apparecchio si può assai facilmente determinare. Ed io ho eseguito tali misurazioni sovra pezzetti di fegato, di milza, di cuore, di muscoli di vari animali, sia mentrechè questi tessuti eran conservati viventi, sia dopo la loro morte spontanea, sia dopo la morte artificialmente provocata mediante il riscaldamento o il congelamento, sia in diversi stati funzionali degli organi stessi,

[1] *Sulla conducibilità elettrica dei tessuti animali.* (Lo Sperimentale, 1901, V. anche Zeitschr. f. Biologie, 1902).

sia infine a vari periodi di tempo dopo la morte delle cellule, quando eran cominciate le modificazioni chimiche postmortali e la putrefazione.

Il resultato principale che ottenni da tali esperienze fu questo, che la conducibilità elettrica specifica diminuisce sempre e considerevolmente col morire del protoplasma, mentre poi torna di nuovo ad aumentare e finisce con l'acquistare valori assai grandi quando cominciano le scissioni postmortali. E poichè la conducibilità elettrica specifica dipende in massima parte dalla concentrazione degli ioni liberi, così ho potuto concludere che, nel passaggio del protoplasma dallo stato di vita allo stato di morte, diminuisce il numero degli ioni liberi che in esso si trovano.

A queste conclusioni sono giunto anche per un'altra via, determinando cioè le variazioni della conducibilità elettrica in dipendenza della temperatura. Mi resultò che per i tessuti morti la curva della conducibilità è continua, regolare, del tipo di una parabola e simile a quelle che si ottengono adoperando soluzioni qualsiasi o il siero di sangue o un altro liquido contenente corpi proteici. Al contrario, ripetendo l'esperienza con un tessuto vivente, la curva acquista tutto un altro andamento e mostra punti di discontinuità nel momento in cui le cellule muoiono per l'aumentata temperatura. Questi punti di discontinuità significano che, in corrispondenza di essi, è avvenuta una improvvisa diminuzione nella concentrazione degli ioni Ripeto adunque che nella morte del protoplasma si verifica una fissazione di ioni o reciprocamente, che la vita del protoplasma è caratterizzata da una più elevata ionizzazione. Quindi sorge spontaneamente la ipotesi che le forze che pensiamo annettersi agli ioni e che entrano in giuoco specialmente allorchè ioni di un segno vengono separati (per mezzo di membrane semipermeabili o per altri mezzi) da ioni del segno opposto, prendono una parte importante nei fenomeni vitali.

Più recentemente è arrivato ad analoghe affermazioni il *Loeb* con i suoi geniali lavori sopra l'influenza che ioni di diversa natura esercitano su varie funzioni biologiche, e special-

mente sullo sviluppo delle uova non fecondate: le ipotesi del *Loeb* però si fondano soltanto sovra apprezzamenti di certi fenomeni cellulari, mentre le conclusioni a cui io son giunto nel lavoro sovra ricordato son basate sovra determinazioni quantitative.

Oltre la ricerca della concentrazione degli ioni hanno massima importanza le determinazioni della concentrazione molecolare totale nel protoplasma. A tal fine sono stati tentati vari metodi, tra i quali debbo ricordare quello del prof. *Sabbatani* che consiste nel determinare il punto di congelamento di un organo come si farebbe per una soluzione qualsiasi. Questo metodo però, sebbene dia buoni resultati, non può servire per decidere se la concentrazione molecolare del protoplasma vari nel passaggio dalla vita alla morte, inquantochè nell'atto stesso della congelazione si ha generalmente la morte del protoplasma. Per decidere una tale questione son tornato al metodo più antico, già adoperato da *Loeb*, da *Miss Cooke* e da *Bottazzi*, che si fonda sulle variazioni di peso degli organi immersi in soluzioni saline di determinata concentrazione. Questo metodo è stato da me modificato [1] in guisa da avere una approssimazione massima per le misurazioni di cui aveva bisogno. Ammettendo che le variazioni di peso che avvengono in organi della stessa natura, tenuti immersi per un egual periodo di tempo in soluzioni saline di differente concentrazione, diminuiscano col diminuire della differenza tra la pressione osmotica dell'organo e quella del liquido ambiente, si può, riportando sulle ascisse i valori crioscopici delle soluzioni adoperate, e sulle ordinate le variazioni di peso, costruire una curva che, nel punto ove taglia l'ascissa, indica con sufficiente esattezza la concentrazione molecolare dell'organo. In altre parole si ottiene questo valore della concentrazione mediante una interpolazione grafica.

In tal modo, esperimentando ora con tessuti viventi, ora con tessuti appena morti, ho potuto concludere che nel passaggio del protoplasma dalla vita alla morte non vi è una

---

[1] Ricerche inedite.

variazione apprezzabile della concentrazione molecolare totale; tale concentrazione aumenta poi considerevolmente allorchè incominciano processi putrefattivi. Determinando poi contemporaneamente la conducibilità elettrica e la concentrazione molecolare di uno stesso organo, mi è risultato che, mentre la prima varia moltissimo, come sovra ho esposto, la seconda resta presso a poco costante.

La reazione dunque in cui consiste il passaggio del protoplasma dalla vita alla morte è caratterizzata dal fatto assai degno di nota, che mentre non varia la concentrazione molecolare totale, varia assai la concentrazione degli ioni: questa è una prova diretta delle modificazioni profonde che avvengono nella costituzione del sistema protoplasma durante la morte. Reazioni di tal genere sono poco conosciute anche nell'ambito dei corpi non vivi e meritano, se non altro per questo loro rapporto con i fenomeni della vita, uno studio sistematico e completo.

Dalle sovraesposte ricerche, come pure da altre che ho già cominciato e di cui spero di poter fra poco pubblicare i resultati, scaturiscono logicamente alcuni quesiti che qui mi sembra utile formulare a guisa di conclusione:

Quali sono i fattori che controbilanciano la pressione osmotica di varie sostanze disciolte, in modo da impedire la loro penetrazione entro certi protoplasmi, e come è che tale impedimento avviene secondo determinati fini fisiologici, per allontanare certe sostanze dannose?

Quali sono i fattori che impediscono lo stabilirsi dell'equilibrio osmotico tra due soluzioni di differente concentrazione separate da una parete colloide? Come può questa parete colloide controbilanciare la pressione di parecchie atmosfere corrispondente alla differenza tra le due concentrazioni?

In terzo luogo come avviene che così diverso è l'equilibrio tra molecole non dissociate e ioni nello stato di vita e di morte del protoplasma?

In conclusione, come è che i corpi organizzati, finchè sono viventi, deviano da quelle leggi fisico-chimiche che si verificano poi quando è cessata la vita?

Invano tenteremmo adesso di risolvere questi problemi, ma intanto non è al tutto privo d'interesse l'averli posti, inquantochè essi per ora ci insegnano in modo irrefragabile, che altri criteri si debbon cercare per la spiegazione dei fenomeni della vita da quelli che ci son forniti da un grossolano meccanismo.

Sono appunto queste deviazioni dalle leggi fisico-chimiche ora conosciute che debbono essere investigate e determinate, ma per raggiungere tal fine non son certo sufficienti i metodi generalmente in uso fra noi, che si basano sovra apprezzamenti generici di variazioni qualitative, ma dovremo cercar l'aiuto dei metodi e dei processi logici che le scienze esatte ci insegnano. È quindi essenziale cercar metodi che permettano determinazioni quantitative, numeriche e procedere poi ad una giusta valutazione di queste e degli errori, eseguire le correzioni necessarie ed infine riassumere in formule i dati di queste determinazioni numeriche e vedere se essi verificano equazioni procedenti da altre considerazioni teoriche o da altre ricerche; ovvero, quando ciò non sia possibile, ricorrere ai metodi grafici che, come è noto, tanti ed inestimabili servigi hanno reso nella trattazione di problemi, per i quali l'analisi matematica si era dimostrata impotente.

Dobbiamo sovratutto desiderare e sperare che avvenga per la biologia generale la stessa rivoluzione che ha da pochi anni modificato radicalmente la chimica.

Questa scienza che doveva finora costruirsi le proprie leggi sovra indagini puramente empiriche, con una grossolana interpretazione dei dati sperimentali, oggi, per opera di *Gibbs*, di *Horstmann*, di *Van der Waals*, di *Van t' Hoff* ha veduto innalzarsi il valore logico dei suoi procedimenti, giungendo a rappresentare i fenomeni mediante concetti generali subordinati ai principî dell'energetica: questi concetti permettono ora, per via di deduzioni, di rendere più largo e più rigoroso il controllo delle ipotesi, destinate a spiegare ciò che dagli esperimenti resulta.

L'edificio della chimica teoretica è ormai fondato con la più grande solidità ed i frutti che se ne sono ottenuti e che

se ne ottengono hanno un inestimabile valore, perchè conducono ad una conoscenza intiera, esatta e sicura.

Ma non si creda per questo che io pensi adesso soltanto alla possibilità di una biologia generale teoretica. Ho voluto citare questo esempio, in quanto che la chimica ci segna il cammino per cui anche i biologi debbono ormai avviarsi; e come la chimica si è innalzata alla dignità di scienza esatta dopo che ha cominciato a valersi della termodinamica, così è alla termodinamica che, a parer mio, dovrebbero rivolgersi coloro che si occupano di questioni biologiche generali.

La termodinamica, nella sua parte fondata sovra due principî di esperienza, ai quali, poichè li abbiam sempre visti verificati in tutti i processi naturali, si assegna un valore universale, ci fornisce una serie di equazioni che hanno la massima generalità; ed è ragionevole credere che anche i processi biologici debbano soddisfare queste equazioni, qualunque sieno le condizioni in cui essi si compiano, per quanto complessi e complicati essi ci si possano manifestare. La conoscenza ultima a cui possiamo sperare di giungere nello studio dei fenomeni della vita è la spiegazione del loro determinismo subordinatamente a queste equazioni dell' energetica, onde appaia il modo con cui esse vengano verificate.

R. Istituto di Studii Superiori pratici e di perfezionamento in Firenze.

SUL POTERE DI RIDUZIONE DEI TUMORI.

NOTA PREVENTIVA.

DOTT. OSCAR MARCHETTI
2° Assistente di Clinica Chirurgica

DOTT. EDOARDO FILIPPI
Aiuto di Materia medica.

Fra i molti studî che delle particolari attività dei tessuti animali si sono fatti, è certamente di incontrastabile importanza quello che riguarda le proprietà di riduzione dell'ossigeno che hanno organi e tessuti. Anzi si può dire che queste proprietà costituiscono uno dei poli della vita cellulare.

Aumentandosi sempre più le nozioni che avevamo su le proprietà biochimiche dei tessuti, dopo le belle ricerche di *Ehrlich*, di *Rey-Paylhade*, di *Gautier* e di altri, fu accertato con geniali esperienze che i tessuti viventi e quelli morti sono capaci di sottrarre al sangue una parte di ossigeno e fissarlo in modo più o meno stabile; hanno insomma potere di riduzione. *Giacco*, *Abelous* ed *Helier* con dimostrazioni più precise ne hanno data conferma.

Questo potere riduttore è insito in quelle sostanze estrattive che, secondo la definizione che ne dà *Gautier* (1), costituiscono l'insieme delle materie organiche di cui la piccola quantità o la natura non bene definita non ne hanno permessa una dosatura separata e che rappresentano dei termini suc-

(1) Chimie appliquée à la physiologie, T. II, pag. 376.

cessivi di disassimilazione, termini cioè di indole disintegrativa. Così sono esse da ritenersi di interesse fisiologico e patologico perchè danno dei ragguagli molto interessanti su questi processi dissimilativi. Queste materie sono quasi tutte azotate, prodotte da una ossidazione imperfetta e come tali hanno appunto potere di riduzione.

Il concetto dominante ed anche il più antico in riguardo di queste sostanze, è che esse si producano nell'attività degli organi perchè essi non sarebbero allora capaci di assorbire tutto l'ossigeno necessario risultandone a questo modo una certa quantità di sostanza insufficentemente ossigenata.

I lavori di *Grützner* e *Gscheidlen* su le proprietà riducenti dei muscoli dopo il lavoro sono informati a questa convinzione. Più recentemente *Helier* ha considerate le sostanze riducenti come dei magazzini di riserva di ossigeno che i singoli organi esaurirebbero durante il lavoro, così che egli ha potuto dimostrare che nel momento della sua maggiore attività la cellula ha il suo potere riduttore assai diminuito. *Ehrlich* dice invece che il potere riduttore esprime l'affinità per l'ossigeno che hanno le cellule le quali da un lato riducono, dall'altro ossidano: la cellula viene paragonata ad una molecola gigantesca le cui multiple valenze attrarrebbero con diversa energia l'ossigeno. *Spitzer* (1) invece crede che siano i nucleoproteidi i quali a seconda delle condizioni in cui si trovano, agirebbero diversamente ossidando e riducendo. E mentre la maggior parte degli autori si accorda nel ritenere che il potere riduttore sia una manifestazione vitale della cellula, altri negano ciò: *Giacco* così non crede di attribuire esclusivamente al protoplasma vivente il potere riduttore dei tessuti come appunto vorrebbero *Loew*, *Abelous*, *Gscheidlen*, perchè si dimostra che anche delle proteine non viventi (albume d'uovo, siero di sangue, peptone ecc.), hanno potere riducente e perchè ha potuto affermare che la riduzione procede quasi egualmente tanto negli organi freschi che in quelli sottoposti all'ebollizione. Così

(1) Pflüger's Arch., Bd. LXVIII.

Magnanimi conclude con le sue esperienze che in un primo periodo della morte i muscoli hanno la facoltà ancora di poter compiere un certo numero di ossidazioni. Discordi sono pure le opinioni sull'essenza di questo principio riduttore; *Bokorouy* ha dimostrato ch'egli è fissato nel protoplasma, che è colloide, non dializzabile, alcalino e che viene distrutto dagli acidi. *Abelous* e *Gerard* stimano si tratti di una sostanza solubile di natura diastasica, di un fermento solubile riduttore.

Essendo così diverso il concetto che i singoli ricercatori si sono formati su questo potere riduttore, diversi pure sono i metodi impiegati per la sua valutazione: si possono essi dividere in qualitativi ed in quantitativi.

I metodi qualitativi dapprima impiegati hanno svelato il fenomeno che solo in seguito ed in modo sempre più preciso è stato valutato.

Così *Ehrlich* iniettava nell'animale vivente il bleu di alizarina S o quello di ceruleina allo stato di sali acidi; sezionando gli animali subito dopo l'iniezione giudicava dalla maggiore o minore intensità di colorazione, il maggiore o minore grado di proprietà riduttrice. Il *Monti* ponendo sopra una lastra di gelatina al bromuro di argento alcalinizzato dei pezzi di organi freschi, vide una colorazione nera nei punti su cui posavano questi pezzi e dalla comparsa più o meno precoce della colorazione e dalla sua intensità stabilì quali organi fossero dotati di maggior potere riduttore. *Rey-Paylhade* si servì di un reattivo composto di tintura di guaiaco con egual volume di biossido di manganese in polvere ed un po' di alcool a 99°; il reattivo, che dopo agitazione e filtrazione si presenta di un bel colore bleu, si decolora in presenza di poltiglie di diversi organi. *Soave* facendo agire del tessuto muscolare su della pomata al calomelanos ha visto mettersi in libertà dei prodotti volatili capaci di ridurre intensamente il cloruro d'oro, la quale riduzione si fa palese con modificazione di colore. Accanto a questi metodi che furono poi seguiti ed applicati da diversi autori (*Giacco*, *Ducceschi*, *Bidone*) vanno ricordati tutti gli altri metodi quantitativi. Così *Abelous* estrasse le sostanze riduttrici del muscolo con alcool a 95° e le dosò col

metodo proposto da *Richet* [1]. Il qual metodo consiste essenzialmente nella ossidazione di queste materie per mezzo di un liquido di bromo e nel dosaggio dell'eccesso di bromo mediante una soluzione esattamente titolata di cloruro stannoso. Conoscendo l'equivalente in ossigeno del liquido stannoso si può facilmente conoscere la quantità di ossigeno necessario per ossidare le materie estrattive; grandissimo pregio in confronto degli altri di questo metodo è quello di dare il valore di riduzione in grammi di ossigeno.

Helier non si limitò di dosare le materie riduttrici solubili in alcool ma dosò contemporaneamente anche le sostanze solubili in acqua. E quest'autore chiamò *potere riduttore* di un muscolo la quantità di ossigeno che un gramma di questo tessuto è capace di sottrarre al permanganato potassico per trasformarlo in sesquiossido di manganese, ed espresse questo potere riduttore in centimetri cubici di una soluzione titolata debole di permanganato contenente $^1/_{200}$ di molecola ossia gr. 1,59 di permanganato per litro.

A questo metodo *Benedicenti* portò alcune modificazioni seguendone però sostanzialmente il principio. Un altro metodo fu recentissimamente seguito dal *Magnanimi;* egli si vale della riduzione dei nitrati in nitriti dosando la quantità di acido nitroso col metodo *Feldhausen-Kubel;* il qual metodo consiste nella trasformazione dell'acido nitroso in acido nitrico mediante la ossidazione con permanganato potassico in eccesso e titolando di nuovo con una soluzione di sale di *Mohor*. *Pittarelli* ultimamente ha poi indicato un rapido processo volumetrico per determinare il potere riducente dell'orina e degli altri liquidi organici; egli si serve delle soluzioni alcaline di ioduro mercurico a caldo e dosa in seno stesso al liquido per via iodometrica il mercurio metallico precipitato. Il prof. *Bufalini* ha poi di recente pubblicato un nuovo metodo che è quello da noi seguito. Chiama *equivalente di riduzione* di un tessuto, la quantità di ossigeno che un gramma di

[1] Travaux du laboratoire de Richet, T. II, pag. 357.

tessuto è capace di sottrarre al reattivo ossidante — ipobromito sodico — con cui viene messo a contatto, in un semplicissimo apparecchio a tal uopo costruito. Il metodo si basa sulla nota proprietà ossidante dell'ipobromito sodico che, antecedentemente titolato con l'acqua ossigenata, messo in contatto, per un dato tempo col brodo ottenuto alla maniera di *Helier* e coll'estratto alcoolico fatto secondo *Abelous*, e poi calcolando con H^2O^2 l'ipobromito non ridotto, dà per differenza la quantità di ossigeno assorbito dalle sostanze riduttrici contenute nel brodo e nell'estratto alcoolico. Questo dosaggio si compie a seconda della reazione

$$BrONa + H^2O^2 = NaBr + H^2O + {}_2O.$$

Ma siccome un atomo di ossigeno è dovuto all'H^2O^2 e l'altro all'ipobromito, così ridotto a metà il volume del gaz sviluppato, si ottiene direttamente per differenza il volume di ossigeno assorbito il quale ridotto a 0° ed alla pressione di 760 mm. nel modo il più pronto con le tavole di riduzione secondo la nota formula di *Regnault*, e poi ridotto a grammi di ossigeno, dà subito l'equivalente di riduzione cercato.

Riconosciuta nei tessuti animali questa capacità riduttrice dell'ossigeno, le prime ricerche sono state rivolte per conoscere come fisiologicamente si comportavano i singoli organi in riguardo a questo loro potere e le esperienze di *Ehrlich* hanno messo in evidenza che organi e tessuti hanno appunto una capacità di riduzione ineguale, la quale aumenta con la morte; e quest'ultimo fatto, confermato anche da *Giacco*, pare sia dovuto alla putrefazione, la quale è molto attiva nel favorire i processi di ossidazione, in grazia della invasione bacterica che può già da sola fornire un notevole contingente di forza in questi stessi processi.

Hélier ha affermato che per uno stesso tessuto si ottengono dei resultati essenzialmente differenti, cioè che si ha non uno ma più poteri di riduzione, ed in appoggio a quanto afferma che, cioè, nel momento della sua maggiore attività la cellula animale ha il suo potere riduttore assai diminuito,

dimostra che il muscolo in lavoro ha un potere di riduzione minore del muscolo in riposo. Ha poi anche concluso che il sangue è un mezzo assai riduttore e che quando in esso arrivano i prodotti della digestione, il suo potere riduttore rapidamente cresce per diminuire in maniera lenta a misura che fornisce egli nutrimento agli altri tessuti. Ha trovato poi ancora che questo potere di riduzione varia a seconda dei diversi fattori, cioè secondo il numero dei corpuscoli rossi, secondo la variazione nella quantità di plasma, ecc.

Giacco ha affermato che il potere riduttore è massimo nei muscoli, fegato, cuore; medio nel polmone e reni; minimo nel cervello, pancreas, intestino, nella mucosa gastrica, nella ghiandola sottomascellare, assente nel tessuto grassoso, nel sangue e nel latte. Ciò si accorda con i risultati ottenuti da *Abelous* il quale dosando le materie estrattive riduttrici degli organi trovò che il fegato, muscolo e cuore sono gli organi in cui è più attiva la produzione delle materie estrattive riduttrici. L'*Abelous* poi con ricerche speciali sul muscolo ha dimostrato, che la quantità di materie riduttrici che l'alcool può estrarre dai muscoli varia in ragione diretta dell'attività muscolare.

Avute queste nozioni d'interesse fisiologico, altri autori hanno cercato di rivolgere simili ricerche anche per interpretare fatti d'indole patologica. E così fu primo *Hélier* che ha dimostrato che le orine hanno un potere di riduzione il quale è testimone delle incomplete ossidazioni fatte nell'organismo, così che egli ritiene che il potere riduttore delle orine misuri il grado di ossidazioni interstiziali che si fanno nell'economia. *Benedicenti* e *Sandri* hanno stabilito il potere riduttore dei muscoli nell'asfissia lenta; *Magnanimi* infine ha studiate le proprietà riduttrici dei muscoli nei primi periodi della morte.

Per portare un modesto contributo allo studio delle proprietà bio-chimiche dei tessuti patologici, fummo consigliati dal professor *Bufalini* ad intraprendere delle ricerche sul quoziente di riduzione dei tumori approfittando dell'abbondante materiale della Clinica Chirurgica.

E non avendo potuto trovare alcuna memoria riguardante

quest' argomento per quante ricerche di letteratura abbiam fatte, ci sentiamo autorizzati di portare a conoscenza i primi nostri risultati sotto titolo di nota.

Avvertiamo subito che queste ricerche furono fatte e sul brodo ottenuto nel modo stesso di *Hélier* e sull'estratto alcoolico preparato colle indicazioni date da *Abelous* perchè appunto stimiamo necessario, per completare le ricerche, confrontare contemporaneamente l'equivalente di riduzione degli estratti acquosi con quelli degli estratti alcoolici per la ragione che in varie condizioni sperimentali può aversi ora un maggiore, ora un minore accumulo di sostanze riduttrici non ossidate, solubili nell'acqua, ora invece di sostanze solubili nell' alcool.

Gli estratti dei tumori che hanno servito per queste ricerche sono stati preparati appena terminata l'operazione chirurgica con la quale i tumori stessi erano stati tolti, e pure avvertendo il fatto dell' anestesia cloroformica alla quale erano stati sottoposti i pazienti, diciamo esser stato di già stabilito da *Giacco* che il cloroformio non ostacola nè rallenta i fenomeni di riduzione. Per certe speciali operazioni (amputazione di mammella per cancro) avendo potuto avere, oltre il pezzo patologico, anche dei tessuti ed organi normali (muscolo e ghiandola mammaria), abbiamo creduto conveniente di sottoporli essi pure alle medesime ricerche, cosicchè i risultati ottenuti potranno servire di raffronto per quanto è stato trovato in tessuti simili provenienti dai comuni animali da esperimento.

Muscolo normale	Estratti acquosi preparati secondo Hélier	Estratti alcoolici preparati secondo Abelous
	Equivalente riportato ad 1 gr. di tessuto	
Gran pettorale	0.0028600	0.0022880
Idem	0.0028886	0.0012870
Gemello	0.0032890	0.0018447

La comparazione di questi risultati con quelli ottenuti da *Benedicenti* esperimentando su muscoli di rana, mostra una differenza in meno per i muscoli di uomo, la quale differenza è più manifesta confrontandoli con quelli ottenuti da *Hélier* su muscoli di cavia e coniglio.

Infatti *Benedicenti* porta un equivalente medio di 0.00396 calcolato per un gramma di muscolo, *Hélier* ha invece cifre più alte, avendo una media di 0.00551.

L'estratto alcoolico preparato da *Abelous* con muscoli di coniglio avrebbe invece un potere riducente minore di quanto abbiamo trovato per l'uomo, raggiungendo l'equivalente di riduzione appena la media di 0.001050 per gramma.

Del resto è bene notare che i valori da noi calcolati sono abbastanza prossimi a quelli trovati dagli altri autori, riconfermandosi anche il fatto che l'estratto acquoso contiene più sostanze estrattive che quello alcoolico.

Per le ricerche eseguite su i tessuti patologici diremo che la mammella è l'organo che più ci ha fornito materiale di osservazione come quella che più facilmente è sede di neoplasie. Esporremo i risultati nella seguente tabella:

	Estratti acquosi preparati secondo Hélier	Estratti alcoolici preparati secondo Abelous
	Equivalente riportato ad 1 gr. di tessuto	
Mammella normale	0.0013156	0.0004576
Epitelioma	0.0038996	0.0009152
Fibroadenoma	0.0054626	0.0006578
Idem	0.0083512	0 0011154
Epitelioma	0.0047190	0.0014892
Idem	0.0052910	0.0026026
Idem	0.0038996	0.0009152
Idem	0.0050050	0.0015258
Mastite carcinomatosa	0.0071214	0.0036751

Abbiamo avuto qui agio di osservare un caso di epitelioma della mammella assieme con una porzione della mammella stessa, che all'esame macroscopico pareva completamente isolata dal tumore. Orbene vi si nota una marcata differenza tra l'una determinazione e l'altra. In rapporto col maggior equivalente di riduzione trovammo la neoplasia, e valori assai prossimi abbiamo riscontrato per tutti gli altri casi di cancro. Si scosta solo un caso specialissimo di epitelioma della mammella osservato in una donna giovane in istato di gravidanza, il quale per il rapido decorso e per il modo di diffusione, tale da avvicinarsi al processo infiammatorio, ci può giustificare l'alto suo potere di riduzione. È certo che trattandosi di elementi cellulari in così rapido processo evolutivo, il metabolismo loro deve essere assai incompleto e tale da darci ragione dei valori che abbiamo ottenuti. I quali valori non debbono ritenersi minimamente influenzati dalla possibilità di una secrezione lattea che potrebbe esser stata provocata dalla gravidanza in atto e perchè il pezzo di tumore che ha servito per le nostre ricerche presentava tutti i caratteri macroscopici dell'epitelioma e perchè il latte avrebbe un potere riduttore nullo come ha dimostrato *Giacco*.

I tumori della mammella di carattere benigno hanno essi pure un equivalente prossimo a quello dei tumori maligni, anzi maggiore, almeno per i due soli casi da noi osservati.

Nel seguente quadro riuniremo gli altri valori ottenuti con tumori di varia costituzione, aggiungendo pure due tessuti di natura infiammatoria cronica provocati da sifilide l'uno, da tubercolosi l'altro.

	Estratti acquosi preparati secondo Hélier	Estratti alcoolici preparati secondo Abelous
	Equivalente riportato ad 1 gr. di tessuto	
Epitelioma del rene.....	0.0045760	0.0022798
Sarcoma della tibia.....	0.0030888	0.0019448
Sarcoma della reg. post. del torace .	0.0039754	0.0021164
Mixosarcoma della tibia	0.0108960	0.0055494
Mixosarcoma della regione glutea ..	0.0110968	0.0024739
Fibromioma della parete addominale.	0.0084088	0.0011863
Idem	0.0060918	0.0015587
Gomma del testicolo.....	0.0011440	0.0012798
Linfoma tub. della regione cervicale.	0.0088660	0.0030459

L'epitelioma del rene ha equivalenti quasi uguali a quelli dell'epitelioma della mammella: così il sarcoma dà valori più bassi mentre le cifre più alte si sono avute in due casi di sarcoma con degenerazione mixomatosa. Valori pure alti hanno i fibromiomi delle pareti dell'addome, e mentre la gomma del testicolo ha dato l'equivalente più basso di tutti i tessuti osservati, il linfoma tubercolare ha mostrato un potere di riduzione piuttosto alto.

Conclusioni positive certo noi non possiamo trarre da questi studî dato lo scarso numero di osservazioni, le quali ci proponiamo di continuare, ma pare si possa inferire di già che i tumori a decorso rapido con carattere di malignità, hanno equivalente di riduzione minore di quelli a decorso cronico e benigni. Infatti mentre i valori minori sono portati dagli epiteliomi e sarcomi, i fibromiomi e fibroadenomi danno cifre più alte. E senza volere subito attribuire un valore specifico a questi fatti di disintegrazione, dando essi l'esponente dell'attività biologica della cellula, ci pare possano essi far

palese il rapporto che lega la costituzione del tessuto con il suo metabolismo. Tessuti a sviluppo rapido, con attività cellulare assai viva hanno preponderanza forse di fatti sintetici, di indole integrativa e formativa, mentre i tessuti con vitalità cellulare lenta, con facile trasformazione in elementi di dignità morfologica minore, fibrillari, o amorfi, hanno preponderanza di fatto di disintegrazione, i quali si tradiscono colla maggiore possibilità di riduzione dell' ossigeno.

D' altra parte, in altro concetto di idee, si può alla stregua di questi risultati, stabilire che queste sostanze estrattive capaci di riduzione non hanno alcuna influenza su la determinazione dell' intossicamento invocato a spiegare la cachessia prodotta dai tumori maligni, quando esse sono in quantità maggiore appunto nei tumori a carattere benigno.

Firenze, Marzo 1903.

Bibliografia.

Binz, Die Reduction der Arsensäure durch organsäfte. (Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. XXXVIII, 1898).

Grützned, Ueber einige chem. React. des thätigen und unthätigen Muskels. (Pflüger's Arch., Bd. VII).

Gschleiden, Ueber das Reductionsvermöges des thätigen Muskels. (Pflüger's Arch., Bd. VIII).

Ehrlich, Das Sauerstoffbedürziniss. Berlin, 1887.

Abelous, Dosage des matières extractives reductrices dans les organes. (Arch. de physiologie, 1897).

Abelous et Gérard, Sur la présence dans l'organisme d'un ferment soluble réduissant les nitrates. (C. R. Acc. des sciences, 1899, II).

Benedicenti e Sandri, Poteri riduttori dei muscoli nell' asfissia lenta. La respirazione nelle gallerie. — Milano, 1900.

Helier, Sur le pouvoir reducteur des tissus. (Thèse de Lyon, 1899-1900).

Monti, Verandlungen der Physiolog. Ghesch. 2. — Berlin, 1892.

Giacco, Sul potere riduttore dei tessuti animali. (Arch. di farmac. e terapeut., 1899, pag. 449).

Duccescui, I processi di ossidazione, di riduzione e di sintesi negli animali stiroidati. (Sperimentale, anno L, fasc. III).

Bufalini, Nuovo metodo per la determinazione del potere di riduzione dei tessuti. (Arch. di farmac. e terap., IX, 10-11, 1902).

Magnanimi, Sulle proprietà riduttrici dei muscoli nei primi periodi della morte. (Boll. R. Acc. Med. di Roma, XXVIII, fasc. 1, 1902).

Soave, Potere riduttore dei tessuti animali sul calomelano. (Ann. farmac. e chimica, 1900, pag. 375).

Filippi, Sopra un nuovo ureometro del prof. Bufalini. (Clinica moderna, 24 luglio 1901).

Pittarelli, Un altro più rapido processo volumetrico per determinare il potere riducente dell' orina e degli altri liquidi organici. (Gazz. Osp. e Cliniche, 1902, n. 141).

Laboratorio di Patologia Generale della R. Università di Padova
diretto dal Prof. Salvioli.

SOPRA LA PRETESA INFLUENZA DELLA TIROIDE

SUL DECORSO DI GUARIGIONE DELLE FRATTURE.

RICERCHE SPERIMENTALI

PEL

DOTT. PIETRO PEZZOLINI

Aiuto.

Un lavoro del Dott. *Maurizio Steinlin* (1) apparso recentemente negli *Arch. für Klinische Chirurgie*, sopra l'influenza della privazione della tiroide sul decorso di guarigione delle fratture, mi ha invogliato a fare alcune ricerche sullo stesso argomento.

Il suddetto Autore partendo dal fatto già noto, che l'estirpazione della tiroide praticata negli animali durante il periodo del loro sviluppo, è seguita da un arresto notevole nell'evoluzione e nell'accrescimento del sistema osseo, arresto che secondo *Hofmeister* dipenderebbe da alterazioni degenerative delle cellule cartilaginee e consecutivo ritardo nell'ossificazione delle cartilagini interepifisarie, donde il nome da lui dato di condrodistrofia tireopriva, ha voluto vedere se la privazione della tiroide potesse esercitare alcuna influenza sulla formazione del callo nella guarigione delle fratture prodotte esperimentalmente.

Le conclusioni alle quali egli giunse vengono da lui stesso riassunte così:

(1) Steinlin, *Ueber den Einfluss des Schildrüsen-Verlustes auf die Heilung von Knochenbrüchen.* (Archiv für klinische Chirurgie, Bd. 60, Heft II, Seit 247).

« *Per l'estirpazione della tiroide ha luogo un arresto nella guarigione delle fratture.*

Il medesimo consiste in un ritardo nella formazione e nella involuzione del callo e per conseguenza anche in generale nella elaborazione dell' osso definitivo. »

Questi risultati erano di grande importanza, anche perchè venivano indirettamente a dar appoggio ad un nuovo indirizzo di cura proposto in questi ultimi anni da alcuni chirurghi, cito fra questi *Tronchet* (1), *Folet* (2), *Petherot*, cioè quello di usare i preparati di tiroide nella cura delle fratture mal consolidate.

L' argomento era quindi per ogni lato degno di studio.

Lo *Steinlin*, come ho detto, aveva tratto il tema delle sue ricerche dal fatto che la privazione della tiroide esercita una influenza sull' accrescimento normale delle ossa.

Però è noto per le ricerche di *Moussu* (3), *Leonhardt* (4), *Goldberg* (5), *Akopenko* (6), ed altri che l' influenza della privazione della tiroide nei giovani animali, non si fa sentire solo esclusivamente sul sistema osseo, ma sibbene è tutto intero l' organismo animale che rimane indietro nello accrescimento e che risente dannosamente della tireodectomia.

Partendo da questo concetto io mi sono proposto di vedere se la privazione della tiroide avesse influenza oltrechè sui processi di riparazione del tessuto osseo anche sui processi riparativi degli altri tessuti; ed in altre parole mi sono dimandato, se questa influenza ritardatrice della tiroide nella guarigione

---

(1) Tronchet, *Du corp thyroide dans le fractures non consolidés.* (Indépendence méd., 1901, n. 6).

(2) H. Folet, *Pseuartrose, déambulation, thyroidine.* (Gaz. hébdom. de chir., februar 1899).

(3) M. G. Moussu, *Fonction parathyroidienne.* (Compt Rendu de la Soc. Biol., 1897, pag. 44). — *Ueber die Physiologie des Schildrüse und artificiellen Cretinismus.* (Munchener Med. Woch., Jahr. 1897, No. 7).

(4) Leonhardt, *Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des Schildrüse für das Wachsthum im Organismus.* (Münchener Medisch. Woch., 1897, No. 45).

(5) Goldberg, *Die Wirkung der Entfernung der Thyroidea bei jungen Thiren auf die Entwickelung des Organismus.* (Russ. Arch. f. Pathol. ecc., Bd. 3, 1897).

(6) Akopenko, *Ueber die Wirkung der Thyreodectomie auf das Wachstum und die Entwickelung des Knochen und ecc.* (Neurologitschel Westnik, Bd. 6, 1898).

delle fratture, dipendesse veramente da una azione particolore, specifica di questa ghiandola sulla formazione e sullo sviluppo del callo osseo, come vorrebbe lo *Steinlin*, o se invece si dovesse piuttosto attribuire allo stato di grave deperimento, in cui vengono a trovarsi gli animali in preda alla cachessia strumipriva.

Tale l'indirizzo di questo lavoro.

Nelle mie esperienze sono ricorso anch'io ai conigli, perchè come è noto in questi animali la cachessia strumipriva si svolge assai lentamente ed è perciò possibile lo studiare i processi di riparazione in tutti i loro stadi evolutivi ed involutivi.

Ho praticata la tireodectomia completa per mezzo del taglio mediano ed in un sol tempo e risparmiando le poratiroidi, in diciotto conigli dei quali alcuni già a completo sviluppo, gli altri all'età di circa due mesi.

Di questi conigli operati cinque morirono di pneumonite pochi giorni dopo la tireodectomia, quattro per causa ignota senza che si fosse potuto praticare ancora in essi alcuna frattura. Altri quattro che erano stati privati della tiroide quando erano già adulti vennero uccisi dopo un tempo variabile dai tre ai quattro mesi dall'operazione senza che avessero presentato alcun sintomo di cachessia, ed infine gli ultimi cinque morirono dopo molto tempo della tireodectomia, ma avendo presentato un ritardo notevolissimo nell'accrescimento generale del corpo e sintomi più o meno palesi di cachessia.

Ciascun coniglio tireoprivo venne posto fino dal giorno dell'operazione a confronto con un altro coniglio della stessa età e della stessa razza, e tanto l'uno che l'altro vennero sempre tenuti nelle identiche condizioni di vita.

La seguente tabella dà brevemente relazione dell'età dei varî conigli tireodectomizzati, del tempo che durarono in vita, delle cause della morte:

Animale d' esperimento	Data della tireodctomia	Età dell' animale all' epoca della tireodectomia	Data della morte od uccisione	Quanti giorni dalla tireodectomia	Cause della morte
1	21 Ottob.	2 1/2 mesi	15 Dicem.	55 giorni	Pneumonite
2	21 »	2 1/2 »	7 Novem.	17 »	Idem.
3	21 »	2 1/2 »	5 Dicem.	45 »	Idem.
4	21 »	2 1/2 »	28 »	68 »	Ignota (senza cachessia)
5	13 Nov.	5 »	15 Nov.	2 »	Pneumonite
6	13 »	5 »	30 Dicem.	47 »	Ignota (senza cachessia)
7	18 »	5 »	17 Febb.	90 »	Dissanguamento (senza cachessia)
8	18 »	5 »	17 »	90 »	Idem.
9	24 »	6 »	24 Aprile.	150 »	Ignota (senza cachessia)
10	23 Dicem.	5 »	25 Dicem.	3 »	Pneumonite
11	23 »	5 »	14 Giugno	175 »	Dissanguamento (senza cachessia)
12	23 »	5 »	14 »	165 »	Idem.
13	15 Genn.	1 1/2 »	25 Magg.	130 »	Dissanguamento (cachessia)
14	22 Dicem.	1 1/2 »	20 Magg.	149 »	Idem.
15	30 Genn.	2 »	23 Magg.	112 »	Cachessia
16	30 »	2 »	20 Giugno	141 »	Idem.
17	4 Febbr.	2 »	29 Aprile	85 »	Idem.
18	3 Marzo	2 1/2 »	13 »	40 »	Ignota (senza cachessia)

Sebbene sia fuori dello scopo di questo lavoro l'occuparsi del problema importantissimo e sempre discusso della funzione della tiroide e nelle conseguenze della tireodectomia, pure non posso fare a meno di accennare brevemente ad un indirizzo affatto nuovo, che hanno preso in questi ultimi anni gli studi su questa ghiandola.

Già da tempo l'osservazione clinica ci aveva insegnato, come la ghiandola tiroide dovesse esercitare una influenza indiscutibile sullo sviluppo normale extrauterino dell'organismo e l'anatomia patologica ci avea pure mostrato, come il così detto cretinismo atrofico fosse intimamente legato all'atrofia e degenerazione della ghiandola tiroide.

Notevoli sono a tal riguardo gli studi di *Kocher*, di *Reverden*, *Bottini*, *Langhans* ecc. Queste osservazioni cliniche ed anatomo-patologiche hanno ormai ricevuto la loro conferma anche dalla patologia sperimentale.

Le ricerche di *Glei* (1), *Moussu* (2), *Hofmeister* (3), *Leonhardt* (4), *Golberg* (5), *Akopenko* (6) ci hanno già bene istruiti sull'influenza che esercita la tiroide, sopra l'accrescimento normale del corpo e sui vari fenomeni che tengono dietro alla tireodectomia praticata negli animali giovani.

Questi fenomeni si possono brevemente riassumere così: arresto in alto grado dello sviluppo del corpo, denutrizione generale, disturbi trofici della cute, caduta dei peli. Essi caratterizzano il quadro della cachessia strumipriva cronica che conduce al così detto cretinismo atrofico sperimentale.

Nei conigli i primi sintomi di questa cachessia, che si manifesta come vedremo solo in quelli tireodectomizzati durante i primi periodi dello sviluppo extrauterino, appaiono di solito parecchio tempo dopo l'operazione e si manifestano da principio col rimanere indietro dell'animale nella crescita ge-

(1) Glei, *Ueber die Functionen der Schildrüse.* (Centralbl. für Allgem. Path., 1896 Seit).
(2) Moussu, loc. cit.
(3) Hofmeister (Fortschrifft der Medic., Bd. X, S. 120).
(4) Leonhardt, loc. cit.
(5) Golberg, loc. cit.
(6) Akopenko, loc. cit.

nerale, e col mancato aumento nel peso del corpo. In seguito insorgono alterazioni distrofiche della cute specialmente del dorso, la quale si fa sede di un' abbondante desquamazione; il pelo non è più lucente ma ruvido, si raccoglie in gruppi e cade, l' animale sebbene continui a mangiare con abbastanza voracità pure non aumenta più in peso ed anzi talvolta diminuisce, riducendosi rapidamente ad uno stato di grave cachessia ed alla morte.

Altre volte invece il decorso è più lento, ed in ogni caso è sempre accompagnato ad un certo grado di ottusità dell'animale, che non reagisce prontamente agli stimoli, che non mostra la solita vivacità e sta per lo più accovacciato negli angoli della stalla. Non ho mai osservato nè fenomeni di paralisi, nè di tetania, tanto frequenti nella cachessia acuta.

All' autopsia si nota uno stato di atrofia generale di tutti gli organi tanto in grandezza che in peso, ma nessuna alterazione macroscopica che possa dar ragione della morte.

Nei conigli da me esaminati non mi è mai capitato di trovare, se si eccettua un caso nel quale la milza era enormemente grossa, nè ghiandole tiroidi accessorie ingrossate, nè l' ipertrofia dell' ipofisi, nè delle capsule soprarenali, organi che secondo l'opinione di alcuni dovrebbero entrare in funzione vicariante con la tiroide.

Per dare un' idea più esatta del modo con cui decorre in generale la cachessia strumipriva, io esporrò qui brevemente il quadro postoperativo di uno dei miei conigli tireoprivi.

Tabella II.

Animale d' esperimento	Animale di controllo
Coniglio di razza comune dell'età di due mesi circa.	Coniglio di razza comune dell'età di due mesi circa.
Data dell'operazione 30 Gennaio.	
Lunghezza del corpo dall'apice del muso alla coda cm. 28	Lunghezza del corpo dall'apice del muso alla coda cm. 27.

Animale d'esperimento	Animale di controllo
Peso prima dell'operaz. Kg. 0,835 » al 3 Febbraio » 0,835 » » 10 » » 0,915 » » 17 » » 1,080 » » 24 » » 1,125	Peso al 30 Gennaio Kg. 0,755 » » 3 Febbraio » 0,740 » » 10 » » 0,828 » » 17 » » 0,962 » » 24 » » 1,085
Il coniglio mostra di non aver sofferto nulla per l'atto operativo, mangia ed è vivace come il coniglio di controllo.	
Peso al 3 Marzo Kg. 1,120 » » 10 » » 1,150 » » 17 » » 1,180 » » 24 » » 1,170 » » 31 » » 1,070	Peso al 3 Marzo Kg. 1,165 » » 10 » » 1,156 » » 17 » » 1,275 » » 24 » » 1,280 » » 31 » » 1,300
La cute incomincia a presentarsi in alcuni punti come secca, eczematosa ed in preda ad un continuo processo di desquamazione, il pelo va perdendo la sua naturale lucidità. Del resto l'animale continua a mostrarsi vivace e mangia con voracità.	
Peso al 5 Aprile Kg. 1,112 » » 11 » » 1,185 » » 14 » » 1,185	Peso al 5 Aprile Kg. 1,377 » » 11 » » 1,395 » » 14 » » 1,405
Il coniglio continua a rimanere indietro nello sviluppo in confronto al coniglio di controllo, si mostra melanconico, non rizza le orecchie quando si entra nella stalla, né risponde a stimoli dello stesso genere, così prontamente come fa il suo compagno. La respirazione, la deambulazione del resto sono affatto normali, l'animale non ha tremori, né barcollamento, né fenomeni di paralisi.	
Peso al 20 Aprile Kg. 1,055 » » 28 » » 1.160 » » 3 Maggio » 1,090	Peso al 20 Aprile Kg. 1,400 » » 28 » » 1,420 » » 3 Maggio » 1,427
L'animale non cresce affatto, mangia poco, sta quasi sempre accovacciato negli angoli della stalla, ha testa grossa, ventre gonfio, i peli ruvidi raccolti a gruppi cadono abbondantemente, la desquamazione della cute continua, l'animale ha aspetto manifestamente cachettico, senile.	

Animale d'esperimento	Animale di controllo
Si produce la frattura dell'ulna e del secondo metatarso interno di destra e di sinistra, nonchè una ferita lineare del padiglione dell'orecchio.	
Peso al 8 Maggio Kg. 1,120 » » 15 » » 1,127 » » 23 » » 1,080	Peso al 8 Maggio Kg. 1,427 » » 15 » » 1,550 » » 23 » » 1,580
24 Maggio. — Il coniglio è morto. All'autopsia oltre lo stato di denutrizione generale, di atrofia di tutti gli organi non si riscontra alcuna alterazione. La tiroide è stata asportata completamente, e non si trovano tiroidi accessorie ingrossate, non ipertrofia della milza, nè dell'ipofisi, nè delle capsule surrenali.	*24 Maggio.* — L'animale viene ucciso.
Lunghezza totale del corpo cm. 36.	Lunghezza totale del corpo cm. 45.
Peso fegato gr. 30 » cervello » 7,25 » cuore » 3 » milza » 0,60 » reni » 11,5	Peso fegato gr. 52 » cervello » 9 » cuore » 5 » milza » 1,15 » reni » 12,5

Come ossa da fratturare mi sono servito dei secondi metatarsi interni ed esterni, spesse volte (quando cioè la resistenza nè troppo forte, nè troppo debole dell'osso me lo permetteva) anche dell'ulna che fratturavo lasciando intatto il radio il quale servendo così assai bene da ferula ne impediva i facili spostamenti, e rendeva perciò meglio confrontabili fra loro i vari stadi del processo di guarigione.

Del resto io non mi sono mai accontentato di praticare una sola frattura per ogni esperienza, ma sibbene ne praticai parecchie fino a sei in uno stesso animale, contemporaneamente od in epoche diverse, per cui credo che da questo lato i risultati ottenuti non sieno suscettibili di obbiezione.

Per lo studio dei processi riparativi degli altri tessuti io mi servii del padiglione dell'orecchio, nel quale praticai ferite lineari e circolari interessanti l'intero spessore del medesimo.

Contemporaneamente che negli animali tireoprivi venivano praticate le stesse lesioni ossee e cutanee negli animali di controllo, nello stesso modo e sotto le identiche condizioni.

Tanto le fratture quanto le soluzioni di continuo della cute vennero praticate di solito quando eransi già manifestati i primi sintomi della cachessia, oppure quando era già passato tanto tempo da lasciar supporre che essa non dovesse più manifestarsi.

I conigli morti di pneumonite subito o poco tempo dopo la tireodectomia non poterono naturalmente essere presi in osservazione, e perciò il numero dei conigli sottoposti all'esperienza non corrisponde a quello dei conigli tireodectomizzati.

Ed ora passo a riferire delle singole esperienze che io dividerò in due serie. I conigli della prima serie disposti in tre gruppi vennero tireodectomizzati in un'epoca molto avanzata dello sviluppo extrauterino, quelli della seconda serie, che risulta di cinque gruppi, vennero invece privati della tiroide nei primi periodi della vita extrauterina.

Serie I. — *Gruppo I.*

Si compone di tre conigli di cui uno di controllo e due d'esperimento. Le fratture vennero prodotte ottanta giorni dopo la tireodectomia, e gli animali vennero uccisi nove giorni dopo le fratture, senza che avessero mai presentato alcun sintoma di cachessia.

	Coniglio n. 1 tireoprivo	Coniglio n. 2 tireoprivo	Coniglio n. 3 di controllo
Data della tireodectomia	18 Novembre	18 Novem.	.....
Età dell'animale	6 mesi	5 mesi	5 mesi
Peso prima della tireodectomia	Kg. 1.355	1.402	1.310
Data della morte od uccisione	17 Febbraio	17 Febbr.	17 Febbr.
Peso prima della morte	Kg. 1.522	1.882	1.512
Lesioni prodotte.....	Frattura del II° metatarso esterno di destra e di sinistra.	Idem.	Idem.

Esame delle ossa fratturate. — I metatarsi fratturati mostrano tutti un bel callo più o meno grosso, biancastro, di consistenza cartilaginea. I monconi della frattura sono ancora mobili l'uno sull'altro. All'esame microscopico si osserva che dei due metatarsi del coniglio n. 1° tireoprivo quello di destra presenta una frattura irregolare comminutiva, i due monconi non sono a mutuo contatto, e lateralmente ad essi una grossa scheggia ossea, affatto staccata dallo spessore della diafisi, è completamente circondata da uno strato di tessuto connettivo fibroso, che assieme a grandi aree di cartilagine viene a formare un grosso callo circondante tutto all'intorno i monconi fratturati.

Nella parte estrema del callo, più lontano dalla linea di frattura, tanto sulla superficie periostiale che midollare incominciano a vedersi trabecole ossee.

Gli stessi fatti si notano nel metatarso esterno di destra del coniglio di controllo, ove la frattura per la sua irregolarità è perfettamente paragonabile con la precedente.

Un callo in parte fibroso, in parte cartilagineo, circonda i monconi e le scheggie ossee staccate, mentre nelle parti più esterne sulla superficie periosteale e midollare dei frammenti, l'ossificazione del callo è già incominciata.

Le altre fratture sono più regolari, non comminutive, ma in tutte però vi è un notevole spostamento laterale dei frammenti, il callo piuttosto grosso in parte è già ossificato, ma in parte ancora fibroso cartilagineo specialmente in corrispondenza della linea di frattura.

In generale il processo di guarigione trovasi al medesimo stadio di evoluzione tanto nei conigli tireoprivi come in quello di controllo.

Gruppo II.

Si compone di due conigli l'uno tireoprivo l'altro di controllo.

Il coniglio tireoprivo durò in vita fino a cinque mesi circa dopo la tireodectomia, senza che avesse mai presentato, durante tutto questo periodo, alcun sintoma che accennasse all'insorgere della cachessia strumipriva.

Poi tutto ad un tratto divenne triste, cessò di mangiare, ebbe una rapida perdita nel peso del corpo e morì nello spazio di otto giorni. All'autopsia non si trovò negli organi alcuna alterazione macroscopica che potesse dar ragione dell'avvenuta morte.

	Coniglio tireoprivo	Coniglio di controllo
Data della tireodectomia	24 Novembre	.....
Età dell'animale.....	6 mesi	6 mesi
Peso prima della tireodectomia	Kg. 1.335	1.330
Data della morte.....	24 Aprile	24 Aprile
Peso otto giorni prima della morte	Kg. 1.502	1.497
Peso dell'animale morto.....	» 1.175	1 565
Lesioni prodotte.....	Frattura del II° metatarso interno di destra e di sinistra e dell'ulna di sinistra.	Idem.

La frattura dei secondi metatarsi interni venne prodotta dopo soli quattro giorni dalla tireodectomia e le ossa così fratturate, che nel frattempo s'erano riunite per mezzo di un bel callo fusiforme di consistenza quasi ossea, vennero poi asportate per l'esame microscopico nove giorni dopo la frattura.

L'ulna invece venne fratturata molto più tardi e cioè venti giorni prima della morte dell'animale.

In ambedue i metatarsi fratturati la frattura è abbastanza regolare, con leggero spostamento dei frammenti, che sono però ancora a contatto fra di loro. Tanto nel coniglio tireoprivo, come in quello di controllo, il callo è ancora in gran parte cartilagineo, ma tanto nell'uno che nell'altro incominciano già ad apparire nelle parti più lontane dalla linea di

frattura numerose trabecole ossee. Il processo di guarigione nelle due ossa fratturate è adunque perfettamente rassomigliabile.

La stessa eguaglianza non appare invece all'esame delle due ulne fratturate, poichè sebbene anche qui esistano ancora qua e là aree di cartilagine pure nell'ulna appartenente al coniglio normale di controllo, l'ossificazione del callo è molto più progredita.

Fa d'uopo però ricordare, come il coniglio tireoprivo abbia presentato negli ultimi giorni che precedettero la morte, una notevole perdita nel peso del corpo.

Gruppo III.

Risulta di tre conigli due tireoprivi ed uno di controllo.

I conigli tireoprivi vennero uccisi sei mesi circa dopo la tireodectomia, senza che avessero nel frattempo presentato mai alcun disturbo che potesse accennare all'insorgere della cachessia.

In uno di essi si ebbe veramente ad un certo punto, e cioè dopo il secondo mese dalla tireodectomia, una rapida diminuzione del peso del corpo, unita ad un certo grado di ottusità dell'animale che fece temere l'insorgere della cachessia, ma tali sintomi svanirono rapidamente e l'animale ritornò presto a crescere in peso ed a mostrarsi in condizioni perfettamente normali fino alla morte.

È notevole però il fatto che all'autopsia la milza venne trovata assai ingrandita, di un volume quasi doppio di quella del coniglio normale di controllo.

	Coniglio n. 1 tireoprivo	Coniglio n. 2 tireoprivo	Coniglio n. 3 di controllo
Data della tireodectomia	23 Dicembre	23 Dicem.	.....
Età dell'animale	5 mesi	5 mesi	5 mesi
Peso prima della tireodectomia.....	Kg. 1.302	1.260	1.280
Data della morte od uccisione	14 Giugno	14 Giugno	14 Giugno
Peso prima della morte	1.580	1.500	1.525
Lesioni prodotte	Frattura del II° metatarso esterno di destra e di sinistra.	Idem.	Idem.
		Frattura dell'ulna di destra.	Frattura dell'ulna di destra.

Le fratture del secondo metatarso esterno di destra vennero prodotte 143 giorni dopo la tireodectomia, quelle del secondo metatarso sinistro e dell'ulna vennero praticate più tardi. La frattura dell'ulna non fu possibile nel coniglio tireoprivo n. 1.

Le prime fratture vecchie di trenta giorni mostrano un callo non molto grosso, duro, di consistenza ossea. All'esame microscopico si vede che il callo è formato completamente di trabecole ossee, nè vi è più alcuna traccia di cartilagine, e ciò tanto nel coniglio tireoprivo che in quello di controllo.

Le fratture dei secondi metatarsi di sinistra vecchie di tredici giorni non sono veramente bene paragonabili fra loro, perchè, specialmente quelle dei conigli tireoprivi, sono molto irregolari, comminutive ed il callo assai grosso è nella maggior parte fibroso, cartilagineo, mentre in quella dell'animale di controllo il processo di ossificazione è di già molto progredito.

Perfettamente paragonabili sono invece le fratture dell'ulna del coniglio n. 2 tireoprivo, e del coniglio di controllo. Ambedue sono semplici, trasversali, i frammenti sono in perfetto contatto, il callo assai sottile è formato quasi completamente da trabecole ossee.

Anche questa esperienza ci dimostra adunque chiaramente come nei conigli tireodectomizzati già adulti non si presenti la cachessia e come in essi non si riscontri alcun ritardo nel processo di guarigione delle fratture.

SERIE II. — *Gruppo I.*

	Coniglio tireoprivo	Coniglio di controllo
Data della tireodectomia....	15 Gennaio	....
Età dell'animale.....	1 ½ mese	1 ½ mese
Peso prima della tireodectomia	Kg. 0.750	0.587
Data della morte od uccisione	25 Maggio	25 Maggio
Peso prima della morte.....	Kg. 1.000	1.260

Già al secondo mese dopo la tireodectomia il coniglio incominciò a rimanere manifestamente indietro nello sviluppo generale e a poco a poco si manifestarono tutti i sintomi già descritti della cachessia strumipriva. Ottusità dell'animale, denutrizione generale, perdita dei peli, desquamazione della cute. Esso venne ucciso 130 giorni dopo la tireodectomia.

Le fratture vennero prodotte quando l'animale si trovava già in preda alla cachessia, e contemporaneamente alle lesioni ossee vennero

anche prodotte alcune ferite lineari nel padiglione dell' orecchio interessanti l'intero spessore del medesimo, e naturalmente tanto nel coniglio tireoprivo che in quello di controllo ed in ragioni perfettamente omologhe.

Le ossa fratturate del coniglio tireoprivo mostrano tutte un callo sottile regolare duro, ma non completamente ossificato, giacchè sono ancora possibili leggeri movimenti fra i due monconi. All' esame microscopico si osserva che non ostante che le fratture datino da 35 giorni si scorgono ancora qua e là, e specialmente in vicinanza dell' estremità dei frammenti, aree più o meno grandi di cartilagine, il callo midollare e periosteale è formato da grosse trabecole ossee, conserva cioè ancora la struttura dell' osso spugnoso.

Nelle fratture del coniglio di controllo il processo di guarigione mostrasi al contrario assai più inoltrato, i frammenti sono riuniti fra loro per mezzo di un callo intermediario completamente osseo e che va acquistando la struttura dell' osso compatto.

Il callo midollare e periosteo è già in via di riassorbimento, non esiste più alcuna traccia di cartilagine.

L' esame microscopico delle ferite del padiglione dell' orecchio, mostra che anche in esse il processo di guarigione trovasi in uno stadio assai più avanzato nel coniglio normale, che in quello tireoprivo.

Ed infatti, nelle ferite appartenenti al coniglio normale, i lembi sono saldati fra di loro per mezzo di un ponte di tessuto congiuntivo che ne ristabilisce la continuità, non vi è più alcun residuo di tessuto necrosato, scomparsa è ogni traccia di infiltrazione paricellulare ed il tessuto di cicatrice trovasi già ricoperto da uno strato di epitelio proveniente dai margini della cute normale. In quelle invece appartenenti al coniglio tireoprivo si scorgono ancora qua e là masse necrotiche, residui di sangue stravasato e non ancora riassorbito, i margini della ferita sono tutt' ora in preda ad una intensa infiltrazione di leucociti e non per anco ricoperti da alcun rivestimento epiteliare.

Gruppo II.

	Coniglio tireoprivo	Coniglio di controllo
Data della tireodectomia	22 Dicembre	22 Dicembre
Età dell' animale..	1 1/2 mese	1 1/2 mese
Peso prima della tireodectomia..	Kg. 0,740	Kg. 0,710
Data della morte od uccisione...	20 Maggio	20 Maggio
Peso prima della morte...	Kg. 1,145	Kg. 1,540

Il coniglio tireoprivo incominciò ben presto a rimanere indietro nello sviluppo dal coniglio di controllo. E questo mancato sviluppo del corpo, unito ad uno stato discrasico generale, fu l'unico modo con cui si manifestò la cachessia. Mancò la desquamazione della cute, la perdita del pelo, l'ottusità dell'animale, ecc. Il coniglio venne ucciso 149 giorni dopo la tireodectomia e tanto in esso come in quello di controllo, venne prodotta negli ultimi giorni, dapprima la frattura del secondo metatarso esterno di destra e di sinistra, e più tardi quello dell'ulna.

I metatarsi fratturati del coniglio tireoprivo, nei quali le fratture datano da ventidue giorni, mostrano un callo piuttosto voluminoso e formato ancora in gran parte da cartilagine che va man mano trasformandosi in sostanza ossea.

In quelli del coniglio di controllo invece il callo è già quasi completamente ossificato e solo in corrispondenza della linea di frattura si osservano due sottili striscie di cartilagine.

Nelle fratture dell'ulna in cui il processo di riparazione datava da soli cinque giorni la differenza non è così manifesta. Tanto da una parte che dall'altra i monconi bene a contatto fra di loro sono circondati da un grosso strato di tessuto di granulazione che si spinge fra di essi, mentre nelle parti più lontane sui frammenti incomincia già a disegnarsi un sistema di trabecole osteoidi che prende origine dallo strato esterno del periostio.

Il callo midollare è ancora assai poco sviluppato.

Una differenza fra il coniglio tireoprivo e quello di controllo consiste forse in ciò, che nel primo si scorgono ancora nella cima di frattura residui di sostanza necrotica non riassorbita, che non si vedono nel secondo, e nel primo le trabecole sono molto più sottili e meno abbondanti che nel secondo.

Anche in questi conigli furono praticate contemporaneamente alle fratture, delle ferite del padiglione dell'orecchio, ed anche in esse l'esame microscopico mostra come il processo di riparazione, sia assai meno avanzato nel coniglio tireoprivo che in quello di controllo.

Gruppo III.

Di questo gruppo venne già parlato estesamente nella tabella II. Non mi rimane perciò che di riferire il risultato dell'esame delle ossa fratturate.

Le fratture quando vennero esaminate datavano da venti giorni.

Nel coniglio tireoprivo, il callo è ancora formato in gran parte da cartilagine, mentre nel coniglio di controllo esso è completamente ossificato e le trabecole ossee, grosse, spesse vanno man mano assumendo la struttura dell'osso compatto. Anche nella ferita del padiglione del-

l'orecchio si vede come i processi riparativi avvengano assai più lentamente nel coniglio tireoprivo che non in quello di controllo, giacchè mentre nel coniglio tireoprivo il lembo cartilagineo è ancora scoperto ed i margini della ferita sono ancora in preda ad un certo grado di infiltrazione parvicellulare, nel coniglio di controllo invece il lembo cartilagineo è già ricoperto da un grosso strato di tessuto congiuntivo giovane rivestito a sua volta dall'epitelio.

Gruppo IV.

	Coniglio tireoprivo	Coniglio di controllo
Data della tireodectomia.....	30 Gennaio	.....
Età dell'animale.....	2 mesi	2 mesi
Peso prima della tireodectomia..	Kg. 0,980	Kg. 0,710
Data della morte od uccisione...	20 Giugno	20 Giugno
Peso prima della morte.....	Kg. 0,980	Kg. 1,512

Il coniglio tireoprivo continuò a crescere nel peso e nello sviluppo generale del corpo fino a tre mesi dopo la tireodectomia, verso questo tempo incominciarono i fenomeni distrofici della cute, e la perdita del pelo ai quali tenne presto dietro una rapida diminuzione del peso del corpo, e l'animale venne a morire nello spazio di un mese e mezzo circa in uno stato di gravissima denutrizione generale.

Un mese dopo la tireodectomia, quando ancora non s'era manifestato alcun sintoma di cachessia e l'animale si trovava in condizioni affatto normali, venne prodotta la frattura del II metatarso interno di destra e di sinistra e queste ossa così fratturate vennero poi asportate per l'esame, dopo venti giorni dalla frattura.

Già vedute macroscopicamente non si notava alcuna notevole differenza fra quelle appartenenti al coniglio tireoprivo e quelle dell'animale di controllo. In tutte i monconi erano riuniti da un bel callo non molto voluminoso, duro e che al microscopio si mostrava già completamente formato di trabecole ossee.

Le altre fratture invece vennero fatte in un'epoca posteriore quando l'animale era già in preda alla cachessia, ed in queste invece la differenza fra le une e le altre è notevolissima.

Di esse due vennero prodotte soli ventiquattro giorni prima della morte, e due invece datano da cinquantatrè giorni.

Nelle prime si osserva pressappoco lo stesso fatto notato nelle esperienze precedenti e cioè che mentre nel coniglio tireoprivo il callo contiene ancora grande quantità di cartilagine, questa invece è già stata completamente sostituita dalle trabecole ossee nel coniglio di controllo.

Nelle fratture vecchie di 54 giorni il processo di riparazione è naturalmente assai più avanzato. In quelle del coniglio normale i frammenti sono riuniti per mezzo di un callo intermediario formato di tessuto osseo compatto che si presenta attraversato da ampi canali vascolari.

I processi di riassorbimento sono assai avanzati, specialmente in corrispondenza del canale midollare che per un buon tratto è già formato.

Anche nel coniglio tireoprivo il callo è completamente ossificato e formato da grosse trabecole ossee, le quali in alcuni punti vanno assumendo la struttura dell'osso compatto, ma in generale il processo di involuzione del callo è molto meno progredito, nè vi è ancora alcun accenno alla formazione del canale midollare, che nel coniglio di controllo è già così accusata.

Questa esperienza ci mostra due fatti assai importanti e cioè prima di tutto che le fratture praticate nei conigli tireoprivi, ma prima che si manifesti in essi la cachessia, non mostrano alcun ritardo nella guarigione, ed in secondo luogo che anche nei conigli in preda alla cachessia strumipriva il processo di formazione del callo va man mano progressivamente, benchè con minore attività, attraversando anch'esso i vari stadi evolutivi ed involutivi come nel callo normale.

Gruppo V.

	Coniglio tireoprivo	Coniglio di controllo
Data della tireodectomia.....	4 Febbraio	.....
Età dell'animale.....	2 mesi	2 mesi
Peso prima della tireodectomia..	Kg. 0,725	Kg. 0,690
Data della morte od uccisione...	29 Aprile	29 Aprile
Peso prima della morte.....	Kg. 0,840	Kg. 1,350

L'arresto di sviluppo del coniglio tireoprivo fu notevolissimo ed incominciò a manifestarsi già dopo il primo mese della tireodectomia. Dopo circa tre mesi dall'operazione il coniglio era ancora quasi della stessa grossezza e solo aveva assunto come un aspetto senile: esso morì in istato di grave marasmo generale.

Come grave e rapido fu l'insorgere della cachessia, altrettanto notevole si mostrò il ritardo nella guarigione delle ferite ossee e cutanee.

Le fratture vecchie di nove giorni non mostravano quasi ancora alcun principio di ossificazione del callo, mentre nel coniglio di controllo esso era formato quasi completamente da trabecole ossee.

Anche nelle soluzioni di continuo praticate nel padiglione dell'orecchio il ritardo del processo rigenerativo nell'animale d'esperimento è pure notevolissimo.

I risultati di queste esperienze se da una parte sembrano collimare con quelli ottenuti dallo *Steinlin*, dall'altra però ne differenziano assai e mi conducono ad una interpretazione affatto diversa. Questi risultati furono già esposti in una nota da me pubblicata negli *Atti della Reale Accademia di Torino*, per cui non mi resta che fare qui poco più che una ripetizione di essi.

1° L'asportazione della tiroide è seguìta nei conigli da un ritardo più o meno notevole nell'accrescimento dell'organismo, solo quando essa venga praticata durante i primi periodi dello sviluppo.

2° Conigli tireodectomizzati già ad avanzato sviluppo sopportano bene tale operazione senza che insorga, anche dopo parecchi mesi dalla tireodectomia, alcun segno di cachessia.

3° L'arresto di sviluppo dell'organismo negli animali operati, consiste in un mancato accrescimento del corpo, in una atrofia di tutti gli organi in generale.

Questi risultati corrispondono perfettamente con quelli ottenuti da *Moussu*, *Leonhardt*, *Golberg*, e dagli altri sopracitati autori.

4° L'influenza ritardatrice della tiroide sul decorso di guarigione delle fratture, si manifesta soló quando l'animale si trovi già in uno stato di avanzata cachessia.

5° Un tal ritardo non è esclusivo pei processi riparativi del tessuto osseo, ma si verifica anche nei processi di riparazione degli altri tessuti, per es., tessuto epiteliale e connettivo.

6° Quanto più grave è la cachessia tanto maggiore è il ritardo nella guarigione delle ferite.

7° Le fratture prodotte nei conigli subito dopo la tireodectomia, od anche in animali tireoprivi già da alcuni mesi,

ma nei quali non si è verificato alcun segno di cachessia, guariscono bene e nel medesimo tempo di quelle prodotte negli animali normali.

8° I processi evolutivi ed involutivi del callo osseo si compiono egualmente bene negli animali tireoprivi come nei normali, e l'influenza della privazione della tiroide è puramente ritardatrice non riscontrandosi mai alcuna alterazione nella struttura del callo.

In base a questi risultati io non potevo ammettere con lo *Steinlin* una influenza diretta specifica della tiroide sulla formazione del callo, nè poteva fare a meno di dare una grande importanza allo stato di grave deperimento in cui venivano a trovarsi i conigli tireoprivi, stato in cui, necessariamente, tutti i processi riparativi non potevano essere che ritardati.

A conferma di questa mia opinione io ho voluto estendere le mie ricerche e vedere se in animali resi cachettici per altre cause, si verificasse eventualmente un ritardo nella guarigione delle fratture, simile a quello notato negli animali in preda a cachessia strumipriva.

Sia col diminuire gradatamente la quantità giornaliera del cibo, sia col produrre un gran numero di ascessi sottocutanei, mercè piccole, ma ripetute iniezioni di trementina, io arrivai a ridurre alcuni conigli in uno stato di grave denutrizione generale e di marasma, ben paragonabile a quello in cui vengono a trovarsi i conigli privati della tiroide durante il periodo del loro sviluppo.

Praticai in questi conigli parecchie fratture ed osservai il modo di decorrere del processo di guarigione, come avea fatto nelle esperienze precedenti.

Non voglio qui ora fare una minuziosa esposizione dei risultati ottenuti. La clinica ci ha già insegnato come negli individui deperiti i processi riparativi si compiono assai più lentamente che nei soggetti sani, e la patologia sperimentale ci ha pure dimostrato come durante l'inanizione i processi di moltiplicazione cellulare sieno assai meno attivi [1].

---

[1] Morpurgo, *Sul processo fisiologico di neoformazione cellulare durante l'inanizione acuta dell'organismo.* (Arch. delle Scienze mediche, vol. XII, 1888).

Le mie esperienze non sono che una conferma di questi fatti.

Tanto le fratture che le ferite cutanee praticate nei conigli, che erano prima stati ridotti nel modo suddetto in uno stato di cachessia, guarirono assai più lentamente di quelle prodotte contemporaneamente nei conigli normali di controllo, e tanto il modo di decorrere dei processi di riparazione quanto la durata del ritardo si mostrarono affatto simili a quelli degli animali in preda a cachessia strumipriva.

In principio di questo lavoro ho accennato alla proposta fatta da alcuni chirurghi di un trattamento tiroideo nella cura delle fratture mal consolidate. Anche lo *Steinlin* cita, quasi a sostegno della sua ipotesi, alcuni casi di pseudo-artrosi andati rapidamente a guarigione dopo l'uso de' preparati di tiroide.

Questi risultati clinici parrebbero stare in certo qual modo in contraddizione con le mie conclusioni, ma qualora si consideri però come tutti questi diversi trattamenti con tiroide, almeno per quanto sembrano dimostrare le ricerche di *Roos* (1), *Ord* e *White* (2), *Magnus Levy*, *Weber*, *Render* ecc., avrebbero per effetto un' aumentata attività del ricambio organico in generale, si capisce come essi possano anche esercitare indirettamente un' influenza utile sui processi riparativi in genere, e come non vi sia quindi la necessità di attribuire loro alcuna azione specifica nella formazione del callo nelle fratture.

Al mio maestro prof. *Salvioli* che mi fu guida autorevole nelle mie ricerche mi è grato rendere pubbliche attestazioni di gratitudine e riconoscenza.

---

(1) Roos (Klin. und phys. Chemie, August 1895).

(2) Ord e White, *Clinical remark of certains change observed in the urine in mixoedema of the administration of glicerined extract of thyroid gland*, 1898.

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Padova
diretto dal Prof. A. Bonome.

SULLA DEGENERAZIONE AMILOIDE SPERIMENTALE.

OSSERVAZIONI

DEL

DOTT. ETTORE RAVENNA

Aiuto.

Non v'è oggi alcun dubbio che la degenerazione amiloide possa essere provocata sperimentalmente in certi animali: soltanto le ricerche dei vari Autori, anche se condotte colle stesse modalità, non hanno dato esito positivo in tutti gli animali della stessa specie.

Nel corso di due anni ho iniettato conigli, topi, polli con culture pure ottenute da vari focolai di suppurazione di stafilococco piogeno aureo, del microrganismo cioè che tutti ammettono produca con maggior facilità la degenerazione amiloide. Ho fatto inoltre iniezioni con culture di altri microrganismi, e con varie qualità di pus: ho tentato anche di produrre alterazioni negli albuminoidi dei tessuti o nella crasi sanguigna, nella speranza di trovare in queste alterazioni qualche schiarimento sul modo di originarsi di tale degenerazione.

Che non sia inutile il far conoscere le mie ricerche e gli scopi che mi prefiggevo, apparirà chiaramente da una sommaria esposizione dei reperti ottenuti dai vari Autori, dai quali si vedrà come controversi ancora siano molti punti della questione.

Nel suo trattato di Anatomia Patologica il *Birch-Hirschfeld* (1) parla di una estesa e caratteristica degenerazione ami-

(1) Birch-Hirschfeld, Lehrbuch der Pathologischen Anatomie, 1882.

loide trovata nella milza di un coniglio, morto sei settimane dopo inoculazione di pus proveniente da carie delle ossa di un ragazzo, che poi al tavolo anatomico mostrò la degenerazione amiloide dei reni. Sembrerebbe che questo reperto avesse incoraggiato l'Autore a tentare se con altri esperimenti simili si potesse produrre l'amiloide, poichè egli soggiunge che ulteriori ricerche fatte collo stesso indirizzo gli diedero sempre risultato negativo.

Due casi di degenerazione amiloide sperimentale riferiscono *Bouchard* e *Charrin* (1), i quali in un coniglio iniettato prima con cultura di piocianeo, poi con cultura del bacillo del pus bleu, posero in rilievo col violetto di metile, colla safranina e colla gomma iodata le reazioni della sostanza amiloide nei glomeruli e nei grossi vasi della corteccia renale e nei capillari delle piramidi, ed inoltre in qualche vaso e in qualche segmento muscolare del cuore; e in preda pure alla degenerazione amiloide trovarono i reni di un coniglio iniettato per un mese con culture del bacillo della tubercolosi umana.

Il primo che ebbe l'idea di ricercare se la degenerazione amiloide si potesse ottenere sperimentalmente, riproducendo negli animali le condizioni che si verificano nell'uomo in preda alle suppurazioni croniche, fu il *Gianturco* (2). Questi, studiando in collaborazione col *D'Urso* l'effetto delle iniezioni di culture sterili di stafilococco piogeno aureo, trovò che i prodotti tossici elaborati nelle culture in brodo da tale microrganismo non determinano traccia di degenerazione amiloide negli organi di cavie e di conigli, nè quando sono separati mediante passaggio attraverso il filtro *Chamberland*, nè quando le culture sono sterilizzate alla temperatura di 100°, o in modo discontinuo alla temperatura di 58° per 7–8 giorni. L'A. partendo dal concetto, che *a priori* si presenta del resto come il più giusto, che una degenerazione indotta da microrganismi la si debba attribuire ai loro prodotti tossici, non pensò di tentare l'iniezione negli

(1) Bouchard e Charrin, *Dégénérescence amyloide expérimentale.* (Comptes Rendus Hebdomadaires de la Société de Biologie, seduta del 13 ottobre 1888).

(2) Vedi Giornale dell'Associazione Napoletana, Anno 2°, puntata 4ª, 1892, pag. 869-899.

animali di culture vive di stafilococco piogeno aureo. Questo modo di sperimentare, che provocando suppurazioni negli animali, riprodurrebbe forse in essi alcune delle condizioni che sono favorevoli al formarsi della degenerazione amiloide nell'uomo, fu invece tentato in seguito e generalmente con esito fortunato.

Il *Condorelli-Maugeri* (1) coll'iniezione nei conigli per via sottocutanea e endovenosa di filtrato di culture in brodo del bacillo subtilis e dello stafilococco piogeno aureo, non provocò neppur esso il minimo accenno di formazione di sostanza amiloide. Questa invece comparve in modo evidente nella milza, nel fegato e nel rene, dove diede anche assai spiccate le reazioni coi colori d'anilina e coll'iodio, in tre conigli uccisi uno nove, uno otto, e uno sei giorni dopo l'introduzione nelle vene di un grammo al giorno del residuo sterilizzato a bagnomaria delle stesse culture di subtilis e di stafilococco piogeno aureo. In un coniglio, iniettato invece sottocute collo stesso residuo di filtrato, apparvero soltanto dopo 34 giorni traccie di amiloide nella milza. L'A. crede in base alle sue esperienze di poter concludere, che piuttosto che ad una degenerazione, si debba attribuire ad un vero *deposito* la presenza di sostanza amiloide, in quanto che questa provenga da residui di microrganismi, patogeni e non patogeni, che penetrati nel circolo sanguigno, vanno a depositarsi nei vari organi. Questo singolare modo di vedere certamente abbisogna di conferma.

Lo *Czerny* (2), per studiare la reazione iodica dei leucociti, attribuita alla presenza in essi di glicogene, provocò in due cani suppurazione con olio di trementina, e vide allora che l'iodio conferiva a un gran numero di globuli bianchi il colore caratteristico rosso mogano, che veniva però trasformato in violetto dopo l'aggiunta di acido solforico. Ammise in base a questo reperto che la sostanza iodofila contenuta nei globuli

(1) Condorelli Maugeri, *Sulla etiogenesi della sostanza amiloide.* (Atti dell'Accademia Gioenia, Serie IV, Memoria XVIII).

(2) Czerny, *Zur Kenntniss der glykogenen und amyloiden Entartung.* (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Band 31).

di pus fosse, anzichè glicogene, uno stadio che precedeva la formazione dell'amiloide, tanto più che nella milza dei due animali si ebbero tutti i caratteri e tutte le reazioni della sostanza amiloide. Secondo lo *Czerny* nel focolaio purulento i globuli bianchi si caricherebbero di questo speciale prodotto degenerativo iodofilo, e attraversando il torrente circolatorio, lo porterebbero nei vari organi, specialmente nella milza, provocando così la degenerazione amiloide.

In ricerche ulteriori (1) avendo l'A. ottenuto l'amiloide sperimentalmente in altri tre cani con suppurazione, che chiameremo chimica, provocata dall'iniezione di olio di trementina, si avrebbe nei suoi reperti una prova che alla suppurazione stessa, più che all'agente che la produce, è dovuta la formazione della sostanza amiloide, ben s'intende nei casi in cui questa alla suppurazione deve essere attribuita. E ciò sembra, come vedremo anche in seguito, doversi ora ammettere, sebbene il *Krawkow* nel suo lavoro (2), che può chiamarsi il più completo e il più originale che sia finora comparso sullo studio della degenerazione amiloide sperimentale, interpreti l'amiloide come « un prodotto dovuto a microrganismi, i quali intossicano e debilitano progressivamente l'organismo ».

Per appoggiare questa ipotesi egli pensa ad un'infezione microbica secondaria degli ascessi provocati dallo *Czerny*, tanto più che in esperienze personali colla trementina egli ebbe le reazioni della sostanza amiloide nella milza, ma trovò contemporaneamente microrganismi nella località d'innesto. Afferma inoltre di non aver mai trovato amiloide nel pus, e che la sostanza iodofila dei globuli bianchi di *Czerny* dava bensì le note reazioni dell'iodio e dell'acido solforico, ma non si colorava allo stesso modo dell'amiloide coi colori d'anilina.

Certo il *Krawkow*, se non fu il primo che si prefiggesse

---

(1) Czerny, *Ueber die an Tieren experimentell hervorgerufene Amyloidentartung.* (Centralbl. f. allgem. Pathol., Bd. VII, S. 282).

(2) Krawkow, *De la dégénérescence amyloide et des altérations cirrhotiques provoquées expérimentalement chez les animaux.* (Archives de Médicine expérimentale et d'Anatomie Pathologique, Vol. VIII, 1896).

lo scopo di ottenere sperimentalmente la sostanza amiloide, fu il primo però che tale scopo raggiunse brillantemente, come lo dimostrano i suoi reperti positivi nei conigli e specialmente nei polli.

Partendo, come il *Gianturco*, dalla nozione che nell'eziologia dell' amiloide umana hanno la parte principale le suppurazioni croniche, l'A. volle provocare suppurazioni con culture in brodo di stafilococco piogeno aureo in conigli, cani, polli, piccioni e rane. Esito negativo ebbe nelle rane e nei cani; ottenne la degenerazione amiloide, successiva sempre a produzione di ascessi, in 8 conigli su 12, in tutti i polli, nei quali però non si produssero mai ascessi, ed in uno soltanto di cinque piccioni.

Già nel 1893 aveva il *Krawkow* presentato in un congresso medico russo dei preparati molto dimostrativi; una comunicazione preliminare dei suoi risultati presentava nel 1895 (1) e in modo dettagliato poi descriveva le sue esperienze nel 1896 (2).

Egli dimostra che l'amiloide sperimentale dà tutte le reazioni dell' umana, ma che più sensibile è la reazione coi colori d' anilina, fra i quali il violetto di metile e di genziana tingono la sostanza amiloide in rosa e il verde di metile in violetto.

L' amiloide ottenuto sperimentalmente e chimicamente isolato resiste come quello dell' uomo all' azione del succo gastrico, si scioglie difficilmente negli acidi minerali concentrati, si gonfia negli alcali deboli e nell'acido acetico; macroscopicamente però differiscono assai gli organi che ne sono colpiti, in quanto che non presentano la caratteristica lucentezza cerea, ed anzichè consistenti, sono molli e rassomiglianti spesso a una poltiglia. Del resto si deve ricordare che simili caratteri macroscopici presentano gli organi degli animali in cui si trova la degenerazione amiloide spontanea, specialmente il fegato di cavalli.

---

(1) Krawkow, *Ueber bei Thieren experimentell hervorgerufenes Amyloid.* (Centralblatt f. Allg. Pathol. und Patholog. Anatomie, Bd. 6, 1895).

(2) Krawkow, *De la dégénérescence amyloide etc.* (Op. cit.).

In seguito ad iniezioni di cultura in brodo di stafilococco piogeno aureo la degenerazione amiloide può insorgere negli animali molto presto, e iniziandosi nell' avventizia dei capillari sanguigni, comincia a presentarsi nella milza, poi in scala di frequenza ne sono colpiti il tubo gastro-intestinale, le ghiandole salivari, il fegato e i reni; non intacca di preferenza gli organi ematopoietici, perchè l'A. non la trovò mai nel midollo delle ossa, neppure la rinvenne mai nel sangue e nel sistema nervoso.

Per studiare il modo di svilupparsi della sostanza amiloide, il *Krawkow* asportava nei polli dei pezzetti di fegato, e vide che essa progrediva con rapidità; in un caso per esempio non vi era amiloide nel fegato dopo due mesi, e fu trovato diffuso in pezzetti di organo portati via due settimane più tardi.

La milza non è indispensabile per la produzione della degenerazione amiloide, verificandosi questa anche dopo l'asportazione di tale organo e non localizzandosi neppure in questi casi nel midollo delle ossa.

Dimostrò pure l'A. che la denutrizione e l'esaurimento non sono causa della degenerazione amiloide, perchè questa è ben manifesta anche in animali che dall' inizio dell' esperimento si sono sempre mostrati in buone condizioni e talvolta sono pure aumentati di peso: l'esaurimento, quando si presenta, si deve alle cause generali che hanno prodotto l' amiloide e spesso al fatto che l'amiloide attacca organi assai importanti dell' economia.

Questi sono i punti principali sulla questione dell' amiloidosi sperimentale messi in rilievo dal *Krawkow* mediante iniezioni di culture di stafilococco piogeno aureo nei conigli e nei polli; amiloide, sempre però meno facilmente e in modo meno grave, egli ottenne anche coi bacteri della putrefazione.

Nello stesso anno in cui il *Krawkow* pubblicò per esteso i suoi risultati, altri ricercatori russi poterono convincersi della bontà del metodo da lui raccomandato per ottenere con facilità la degenerazione amiloide sperimentale.

Primo il *Maximow* (1), il quale con iniezioni di culture

(1) Maximow, Dal Russischer Archiv für Pathologie u. s. w., 1896.

di stafilococco piogeno aureo produsse la degenerazione amiloide negli organi di conigli e di tutti i 25 polli adoperati nei suoi esperimenti. Nel fegato dei polli egli non potè con sicurezza decidere se la degenerazione cominci nei capillari o nei vasi maggiori; in quello dei conigli concluse che si inizia nei rami della vena porta e che più tardi partecipano alla formazione della sostanza amiloide anche gli elementi parenchimatosi del fegato, i quali però « non mostrano particolari alterazioni, finchè la degenerazione non ha intaccato tutti i capillari e finchè i blocchi di amiloide non hanno raggiunto un considerevole spessore ».

Riguardo poi al modo di reagire in presenza dell'iodio e dell'acido solforico, l'A. distingue quattro fasi cromatiche: 1° a fresco e in alcool — entrambe le reazioni; 2° a fresco — entrambe, in alcool — metilvioletto solo; 3° a fresco — metilvioletto solo, in alcool-metilvioletto solo; 4° a fresco — metilvioletto, in alcool nulla. E poichè in frammenti di fegato di pollo, asportati durante il periodo delle iniezioni, vide la fase 4ª precedere la 3ª, e più tardi aversi anche la reazione coll'iodio, la fase quarta starebbe ad indicare la più giovane del processo.

Il *Mihaylowitstsch* (1) ottenne reperti positivi in conigli iniettati sottocute da 15 giorni fino a 5 mesi con cultura di piocianeo ed ammise che possa la sostanza amiloide formarsi primitivamente e direttamente dalle cellule epatiche. Nei suoi « Ergebnisse » (2) però il *Lubarsch* dice di credere poco attendibile questa ipotesi, perchè i metodi usati dall'A. erano imperfetti, consistendo soltanto nella colorazione con iodio e acido solforico di preparati fissati in alcool.

Anche allo *Schtschegolew* (3) riuscì di produrre sperimentalmente la degenerazione amiloide nel fegato e nella milza con

(1) Mihaylowitstsch, *Ueber das Verhalten der Leberzellen bei Amyloidentartung der Leber.* Wratsch, 1896.

(2) Lubarsch u. Ostertag, Ergebnisse der Allge. Path. u. Pathol. Anat. ecc., 1900.

(3) Schtschegolew, *Zur Frage über experimentell hervorgerufenes Amyloid bei Tieren.* (Russ. Arch. f. Pathol. etc., Bd. I, 1896).

suppurazioni di lunga durata, prodotte nei cani colla trementina, e nei conigli collo stafilococco piogeno aureo.

Iniettando invece culture di stafilococco piogeno aureo filtrate, allo scopo di provocare sperimentalmente il marasma negli animali (conigli), il *Cesaris-Demel* (1) non ebbe mai occasione di vedere negli organi il minimo accenno di degenerazione amiloide.

Allo scopo di controllare i risultati del *Krawkow* ne ripetè collo stesso metodo gli esperimenti il *Davidsohn* (2), proponendosi specialmente di vedere se la sostanza che si ottiene negli organi degli animali e che dà le caratteristiche reazioni dell' amiloide specialmente coi colori d' anilina, si possa o no mettere in rapporto coll' amiloide dell' uomo.

Iniettò con culture di stafilococco piogeno aureo conigli, topi, polli, cavie e gatti; in queste due ultime specie di animali con risultato negativo, degli altri, su 48, 21 diedero le reazioni coi colori d' anilina, in modo speciale nella milza: venivano poi in scala discendente il fegato, l'intestino, lo stomaco, i reni, le ghiandole salivari, il cuore e infine il pus degli ascessi e il sangue. Risultati sempre negativi ottenne coll' iniezione di streptococchi, di *bacterium coli* e dei bacteri della putrefazione.

Per dare il nome di amiloide alla nuova sostanza prodotta, fu necessario il confronto chimico ed istologico coll' amiloide umano, e risultò da tale confronto che l'A. si sentì autorizzato ad ammettere che la sostanza amiloide prodotta coll' iniezione di stafilococco negli animali specialmente nella milza, dove si presenta in modo assai diffuso, e negli altri organi, dove intacca soltanto i vasi, mostra tanta somiglianza con quella nota come amiloide nell' uomo, che essa deve essere ascritta alla stessa classe. Non corrisponde però in modo perfetto all' amiloide dell' uomo, perchè differenze vi sono per quanto concerne la reazione iodo-solforica; ma poichè la rea-

---

(1) Cesaris-Demel, *Beitrag zum Studium des experimentellen Marasmus.* (Ziegler's Beiträge, Bd. XXI).

(2) Davidsohn, *Ueber experimentelle Erzeugung von Amyloid.* (Virchow's Archiv, Bd. 150, 1897).

zione iodica non è costante, nè sempre eguale, neppure nei casi di amiloide umana, l'A. formula l'ipotesi che si abbia a che fare non con diverse specie di degenerazione, ma con diversi gradi dello stesso processo, la cui più completa formazione è raggiunta, quando la reazione iodo-solforica dà una colorazione bleu.

La dimostrazione che culture di microrganismi patogeni iniettate possono provocare la degenerazione amiloide dava anche incidentalmente il *Gouget* (1), il quale allo scopo di produrre sperimentalmente processi infettivi nel fegato, iniettava per diverse vie culture di proteo.

In un coniglio l'A. iniettò $^1/_4$ cc. di cultura in brodo di proteo nel coledoco, tre mesi più tardi 5 cc. di cultura di proteo in una branca afferente della vena porta, e dopo sei settimane altri 5 cc. nella vena dell'orecchio. Questo animale presentò soltanto nel fegato, e quivi spiccatissimi, tutti i caratteri macroscopici della degenerazione amiloide; invece appena accennate e circoscritte soltanto a qualche capillare periferico di alcuni lobuli, furono le reazioni iodosolforica e quella col violetto di metile, assai probabilmente in causa della fissazione del pezzo in sublimato.

Iniezioni di culture di proteo fatte o nella circolazione generale, o nei rami della porta, o nel coledoco non provocarono in altri conigli il più piccolo accenno di degenerazione amiloide.

Il lavoro sperimentale del *Lubarsch* (2) sulla degenerazione amiloide assunse una intonazione critica, sopratutto perchè i reperti ottenuti con iniezioni sottocutanee di trementina nei cani e di culture in brodo di stafilococco piogeno aureo nei conigli e nelle cavie furono quasi sempre negativi. Infatti su otto cani uno soltanto diede nella milza una reazione amiloide diffusa e tipica dopo 16 settimane di iniezioni, e un altro dopo 21 settimane diede nella milza reazione molto dubbia

(1) Gouget, *Injections hépathiques expérimentales par le proteus vulgaris*. (Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie Pathologique, IX, 1897).

(2) Lubarsch, *Zur Frage der experimentellen Erzeugung von Amyloid*. (Virchow's Archiv, Bd. 150, 1897).

coll'iodio e col violetto di genziana e mostrò invece zolle omogenee splendenti ed anelli ialini nelle pareti dei vasi sanguigni. Su otto conigli in due soli trovò dopo 5-7 settimane di iniezioni la degenerazione amiloide localizzata solo nella milza; in sei cavie l'esito fu sempre negativo.

I caratteri macroscopici della milza in tutti i cani ed in qualche coniglio erano quelli della degenerazione amiloide, l'organo cioè era aumentato di volume, molto consistente, povero di sangue e coi follicoli rilevati e splendenti: in quei casi però in cui le reazioni mancarono, l'A. esclude naturalmente che si trattasse di degenerazione amiloide.

Per vedere come si originasse l'amiloide, il *Lubarsch* asportava a varie distanze di tempo dei pezzetti di milza agli animali, e dall'esame di essi ritiene che l'ipotesi dello *Czerny* dell'origine dalla sostanza glicogenica non è sostenibile, e che si ha invece una prova sperimentale della verità dell'opinione di *Rechlinkausen*, appoggiata dallo *Stilling*, dall'*Hansemann* e dal *Lubarsch* stesso, che cioè la sostanza amiloide possa originare dalla ialina.

Una sintesi dei resultati suoi e degli altri ricercatori fa all'autore concludere che la questione dell'amiloidosi sperimentale non è stata ancora bene risolta, inquantochè non può dirsi con una certa approssimazione dopo quanto tempo in seguito alle iniezioni di culture di stafilococco piogeno aureo tale degenerazione insorga negli animali, e ciò perchè abbiamo molti elementi variabili, quali sono la diversa virulenza dei bacteri, la diversa costituzione dei terreni di nutrizione, e la predisposizione diversa degli animali.

Tale conclusione confutò subito il *Krawkow* (1), imputando l'insuccesso del *Lubarsch* alla scelta degli animali d'esperimento ed affermando ancora una volta che il materiale di ricerca migliore è costituito dai polli: « In questi animali, egli dice, la degenerazione amiloide si può produrre secondo il mio metodo sempre e senza eccezione ed io lo posso affer-

(1) KRAWKOW, *Bemerkung zu der Arbeit von Prof. Dr. O. Lubarsch: « Zur Frage der experim..... etc. »*. (Virchow's Archiv, Bd. 150).

mare con tutta sicurezza. Ognuno che segua il metodo da me indicato può persuadersi che la questione dell'amiloide è stata posta effettivamente da me sopra una base rigorosamente sperimentale, e che con questo metodo si può seguire questo processo passo per passo negli animali ».

E conferma questo asserto del *Krawkow* anche il *Nowak* (¹), le cui ricerche sperimentali appunto vengono a dimostrare che con iniezioni di cultura di stafilococco piogeno aureo si provoca la degenerazione amiloide talvolta nei conigli e sempre nei polli.

Culture di altri microrganismi diedero resultati più incerti, e precisamente riuscirono negative le iniezioni di culture di streptococco e di *bacterium coli;* iniezioni di culture di piocianeo e iniezioni di brodo contenente feci tolte dal crasso di individui, che avevano al tavolo anatomico presentato senza un' apprezzabile causa determinante la degenerazione amiloide, furono negative nei conigli, positive nei polli, in cui provocarono la comparsa dell'amiloide in diversi organi.

Meno completa e costante fu la riuscita degli esperimenti iniettando filtrati di culture e il pus fresco e sterilizzato: anche in tal caso i polli furono i più sensibili, ma non sempre presentarono la degenerazione in tutti gli organi, e di preferenza ne fu intaccata la milza.

L' iniezione di tubercolina produsse nella milza dei blocchi tingibili in rosso col metilvioletto, ma non sempre si trattava con sicurezza di degenerazione amiloide, non avendosi contemporaneamente a quella coi colori d'anilina anche la reazione dell' iodio.

Fra le sostanze chimiche l'olio di croton diede resultati negativi, furono positive invece in tutti gli animali (2 conigli e 5 polli) le iniezioni d'olio di trementina.

Allorchè da questi diversi reperti l'A. viene a formulare delle considerazioni sintetiche, conclude che i polli più dei

---

(¹) Nowak, *Experimentelle Untersuchungen über die Aetiologie der Amyloidosis.* (Virchow's Archiv, Bd. 152, 1898).

conigli si prestano per lo studio sperimentale della degenerazione amiloide; che la patogenesi di questa deve ricercarsi in una somma di cause che alterano le funzioni dell'organismo, e che grande peso deve darsi alla predisposizione individuale.

Il *Petrone* (1) iniettò sette conigli o sotto cute, o entro il peritoneo, o direttamente nelle vene con culture virulente in brodo di stafilococco piogeno aureo, ed ebbe nei cinque vissuti più a lungo le reazioni caratteristiche dell'amiloide coll'iodio e coi colori d'anilina nella milza, nel fegato e nei reni, localizzate però quasi esclusivamente o di preferenza nelle tonache media ed esterna dei vasi sanguigni, e nella milza piuttosto nella polpa che nei follicoli. Per quest'ultima differenza dai casi di patologia umana, perchè è noto come nell'uomo la localizzazione del processo nella milza sia più di frequente nei follicoli, e inoltre perchè l'amiloide spontaneo insorge nelle malattie croniche, mentre negli animali può essere provocato in brevissimo tempo, senza dare neppure agli organi i caratteri macroscopici tipici, quali aumento di volume e di consistenza e aspetto lardaceo, l'autore pensa che negli animali non si tratti di degenerazione amiloide. E poichè trovò del pigmento, certamente di provenienza ematica, libero ed entro cellule della milza, pensa che « le colorazioni ottenute potrebbero essere dovute a una diffusione di pigmento ematico nei tessuti, in seguito alla distruzione dei globuli rossi provocata dalla infezione stafilococcica ».

Della verità di questo concetto egli poi va sempre più convincendosi, allorchè vede che le stesse colorazioni coll'iodio e coi colori d'anilina danno sezioni di polmone umano con infarto emorragico, le valvole cardiache e pezzi di organi con effusione ematica dovuta all'ipostasi, milza, fegato e reni di coniglio stati a contatto con siero di sangue, nel quale si era provocata l'effusione dell'emoglobina, ed organi di conigli nei quali era stata prodotta l'emolisi con estese scottature.

M'interessa intanto di notare che in una sezione di rene

---

(1) Petrone, *Recherches sur la dégénérescence amyloide expérimentale.* (Arch. de Médecine experimentale et d'Anat. Pathol., 1898.

di coniglio sano trattata col violetto di metile, il *Petrone* ha potuto osservare nella sostanza midollare gli epiteli di parecchi canalicoli e le pareti di qualche arteria colorate in rosso violetto.

L'A. finisce coll'avanzare la seguente ipotesi: « Poichè l'effusione nei tessuti di pigmento dà le stesse colorazioni dell'amiloide, non si può ammettere che la degenerazione amiloide sia l'effetto di una continua e lenta infiltrazione di pigmento ematico nei tessuti, che si produrrebbe nelle infezioni molto croniche (sifilide, tubercolosi, malaria), e di una continua e lenta trasformazione che detto pigmento subirebbe a contatto dei tessuti stessi? Questa ipotesi sembrerà verosimile, quando si pensi che l'amiloide si sviluppa di preferenza nelle pareti dei vasi sanguigni e che si localizza più spesso in organi, i quali sia per la loro funzione, sia per la loro struttura (milza, fegato, rene), ricevono in maggior quantità i detriti provenienti dall'ematolisi ».

Fu ripetuto l'esperimento colle ustioni in due conigli dallo *Schepilewsky*, il quale ne riferisce l'esito negativo dal punto di vista dell'amiloide nell'appendice ad un lavoro [1], nel quale furono tentati diversi modi per ottenere la degenerazione amiloide stessa. La provocarono di rado iniezioni di culture di stafilococco piogeno aureo, perchè troppo acuto era l'avvelenamento: costante fu invece la riuscita colle iniezioni di culture di stafilococco stesso, uccise o indebolite col calore e col cloroformio.

In base alle ricerche fatte per opera del *Krawkow* [2] sulla natura chimica dell'amiloide, si venne a concludere che essa è una combinazione di un'albumina con acido solfocondroitinico, e che questo acido poi trovasi fra i tessuti normali, come aveva dimostrato lo *Schmiedeberg* [3], di preferenza nella cartilagine.

---

(1) Schepilewsky, *Experimentelle Beiträge zur Frage der amyloiden degeneration.* (Centralblatt für Bakteriologie ecc., Bd. 25, Juni 1899, No. 24).

(2) Krawkow, *Beitr. zur Chemie der Amyloidentartung.* (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak., Bd. 40).

(3) Schmiedeberg, *Ueber die chemische Zusammensetzung des Knorpels.* (Arch. für experimen. Pathol. u. Pharmak., Band 28).

Seguitava così il *Krawkow* l'ordine degli studi intrapresi nello stesso laboratorio di *Schmiedeberg* dall'*Oddi* (¹), il quale già nel 1894 trovava in due fegati amiloidi di uomo una sostanza che corrispondeva all'acido solfocondroitinico, il quale vide mancare invece in fegati normali di uomo e di bue. Pensò allora l'*Oddi* di tentare se producevasi sostanza amiloide negli animali di laboratorio coll'ingestione o coll'iniezione endovenosa di condroitinsolfato di sodio, ma l'esperimento fatto su un cane e su due conigli riuscì negativo, e soltanto i nuclei di alcune cellule epatiche del cane diedero una colorazione rossa col violetto di anilina.

Orbene, pensò lo *Schepilewsky* di istituire esperimenti su tale indirizzo, di iniettare cioè culture di stafilococco piogeno aureo fatte in emulsione di cartilagine sterilizzata, nel qual mezzo si ebbe sviluppo piuttosto debole, ma il microrganismo si mantenne virulento. Parve in tal modo che fosse affrettato lo sviluppo dell'amiloide, sebbene anche in questo caso l'azione fosse da ascriversi ai bacteri, perchè animali di controllo, che ricevettero iniezioni di semplice emulsione di cartilagine, non mostrarono negli organi alcun accenno alla formazione di sostanza amiloide o ialina.

Altro mezzo di ricerca che riuscì atto a produrre sostanza amiloide fu l'iniezione di fermenti, fra i quali il migliore risultato diede la pepsina, in quanto che essa produce degli ascessi di natura chimica meno gravi che la pancreatina e la papaiotina, i cui effetti sui tessuti sono troppo disastrosi.

Dall'esame istologico degli organi in preda alla degenerazione amiloide ottenuta con questi vari metodi, l'A. si crede autorizzato ad ammettere che la genesi dell'amiloide va ricercata nella degenerazione ialina, la quale precede spesso la degenerazione amiloide, da cui si differenzia perchè non dà le reazioni coi colori d'anilina.

Che si produce prima dell'amiloide negli animali d'esperimento una sostanza che non ne ha ancora tutti i caratteri

---

(¹) Oddi, *Ueber das Vorkommen von Chondroitinschwefelsaüre in der Amyloidleber*. (Arch. fur experimen. Pathol. u. Pharmak., Band 88).

dimostra anche il *Davidsohn* (1), impiegando per materiale di studio i topi bianchi.

Egli intanto premette che le strie che vedonsi colorate in rosso dal metilvioletto nel fegato di polli, per la facilità di riassorbimento e per la mancata reazione coll'iodio e coll'acido solforico non debbono considerarsi sostanza amiloide, cioè un prodotto di necrobiosi, ma uno stadio preliminare di essa ancora vitale. Poi colle solite reazioni, tentate sugli organi di topi che avevano ricevuto iniezioni di cultura di stafilococco piogeno aureo, vide che in due casi positivo riusciva il trattamento con iodio e acido solforico, col quale si otteneva nella milza prima una colorazione rosso mogano dei follicoli e della polpa, poi una tinta azzurra bellissima, localizzata però solo ai follicoli; in altri topi la degenerazione amiloide si produceva, senza dare però la reazione iodo-solforica.

Messo a confronto tale reperto con quello ottenuto nella milza di una donna sifilitica in preda ad avanzata degenerazione amiloide, nella quale il trattamento con acido solforico conferì un colore nettamente azzurro a zolle amiloidi della polpa splenica, in mezzo alla quale spiccavano colorati in rosso i follicoli, si dimostrerebbe secondo l'A. la perfetta somiglianza della sostanza amiloide prodotta sperimentalmente e di quella che sorge spontanea nell'uomo. In ambedue i casi sarebbe amiloide nel suo più alto grado di sviluppo quello che si tinge in azzurro mediante il trattamento coll'acido solforico.

Il *Tarchetti* (2) ripete l'esperimento dello *Czerny* in due cani, in cui inietta sotto cute olio di trementina, arrivando a produrre fino a 17 ascessi in un periodo di oltre quattro mesi, senza poi riscontrare in nessun organo traccia delle reazioni coloranti della sostanza amiloide. Rileva bensì nella milza gli stessi fatti osservati da *Czerny* e da *Lubarsch*, cioè aumento di volume e di consistenza dell'organo, sporgenza dei follicoli sulla superficie di taglio e loro aspetto lucente, ma li inter-

---

(1) Davidsohn, *Zur Erkennung zweier Stadien der Amyloiderkrankung.* (Virchow's Archiv, Band 155, 1899).

(2) Tarchetti, *Di una pretesa degenerazione amiloide sperimentale.* (La Clinica medica italiana, 1900, pag. 392).

petra come dovuti alla circostanza che la milza è iperplasica e funzionante, come lo dimostra la presenza in essa di gran numero di globuli rossi.

Lo stesso reperto macroscopico ottiene nella milza in un cane iniettato col pus di uno dei cani trattati con iniezioni di trementina, e le reazioni coloranti proprie della sostanza amiloide si presentano in lievissimo grado soltanto in una piccola zona dell'organo, dove il sangue è più abbondante che altrove.

Oltre a dissentire dallo *Czerny* nelle ricerche sperimentali, il *Tarchetti* non crede sostenibile l'opinione dello stesso autore che l'amiloide sia dovuto a deposito di sostanza iodofila per trasporto dei globuli di pus, perchè la degenerazione amiloide si ha specialmente nelle suppurazioni di natura tubercolare, dove appunto nei globuli di pus manca la reazione iodofila.

Lo *Zenoni* (1), occupandosi dell'amiloide trovato in cavalli trattati con tossina difterica, mentre fornisce una prova dell'origine tossica della degenerazione amiloide, insiste sulla dimostrazione che per ottenere tale sostanza non occorre l'intervento di una intossicazione con materiale purulento, perchè la sostanza iniettata era sempre assolutamente priva di germi e non provocò mai suppurazioni.

Il materiale di studio fu fornito da cinque cavalli immunizzati con iniezioni di tossina difterica per lo spazio di tre a quattro anni, ricevendo iniezioni a dosi crescenti e a diverso intervallo di tempo; e da un asinello sottoposto ad iniezioni di coli-tossi-proteina *Celli-Valenti*, secondo il procedimento seguìto dal prof. *Celli* per la preparazione del siero antidissenterico.

In questi animali si produsse sempre degenerazione amiloide, che in grado diverso, a seconda degli stadi più o meno avanzati dell'intossicazione, colpisce prevalentemente il fegato, « dapprima localizzata all'intorno dei rami portali interacinosi e nei sepimenti del connettivo portale, talvolta in corrispondenza del nucleo delle cellule epatiche, per depositarsi poi intorno ai capillari degli acini (stato amiloideo peri-endoteliale

(1) Zenoni, *Amiloidosi tossica nell'immunizzazione antidifterica dei cavalli.* (Riforma Medica, Anno 1901, II, Pag. 698).

dei capillari) e framezzo alle cellule epatiche (deposito amiloide extracellulare).

L'autore, riferendosi a qualche punto della questione dell'amiloidosi sperimentale trattato da altri ricercatori, non ritiene vera l'ipotesi del *Petrone* che la degenerazione amiloide possa stare in rapporto coll'infiltrazione dei tessuti con emoglobina, o con pigmento ematico, perchè egli, esaminando organi di conigli in cui aveva provocato un' imponente dissoluzione di sangue, mediante iniezione di culture di una varietà di streptococco a tipo fortemente emolitico, mai aveva potuto constatare la comparsa della reazione amiloide.

Conferma invece lo *Zenoni* il reperto dello *Schepilewsky*, che otteneva l'amiloide con iniezione di fermenti sterili, in quanto che egli stesso, sottoponendo conigli a ripetute iniezioni di caglio liquido introdotto sotto cute, ottenne la degenerazione amiloide.

Alla descrizione microscopica l'A. fa seguire delle considerazioni sull'istogenesi e sul significato dell'amiloidosi tossica, e conclude che « nel processo amiloideo trattasi in ultima analisi di una precipitazione o coagulazione operantesi fra i succhi dei tessuti (linfa) profondamente alterati nel loro ricambio cellulare e il plasma sanguigno, per modo che la sede sarebbe intermedia fra cellule degenerate e sangue, e quindi nelle vie linfatiche delle pareti vasali, ovvero nelle stesse vie del connettivo ».

* * *

I risultati ottenuti da questi ricercatori non vanno, come ben si vede, completamente d'accordo.

Se cominciamo a considerare fra le suppurazioni cosiddette chimiche, quella provocata dall'olio di trementina, lo *Czerny*, lo *Schtschegolew* e il *Nowak* ci dicono che esso produce sempre la degenerazione amiloide, il *Krawkow* invece sostiene che questa si produce solo quando il punto dell'iniezione di trementina è inquinato da microrganismi piogeni, il *Lubarsch* crede bensì che la suppurazione da trementina provochi la degenerazione amiloide, ma egli la ottenne solo due volte su

8 cani, e il *Tarchetti* invece afferma che i caratteri macroscopici della milza di animali iniettati con trementina simulano l'amiloide, ma non rappresentano altro che la funzione ematopoietica aumentata dell'organo.

Per quanto riguarda l'iniezione di culture sterilizzate o di filtrati di culture, specialmente di stafilococco piogeno aureo, parecchi autori, come il *Gianturco*, il *Condorelli-Maugeri*, il *Krawkow* e il *Cesaris-Demel* non hanno con essi ottenuto la degenerazione amiloide; invece il *Nowak* la ottenne principalmente nei polli.

L'iniezione dei bacilli della putrefazione diede al *Krawkow* qualche risultato positivo e al *Davidsohn* sempre risultato negativo, e l'iniezione di culture di piocianeo diede risultati positivi nei conigli a *Bouchard* e *Charrin* e al *Mihaylowitstsch*, e non al *Nowak*, il quale col piocianeo non provocò mai la degenerazione amiloide nei conigli e la produsse invece nei polli.

Interessantissima poi è la discussione cui ha dato luogo la questione dell'amiloidosi ottenuta sperimentalmente colle iniezioni di culture di stafilococco piogeno aureo. Certo bisogna riconoscere che esso è uno dei migliori modi per produrre la sostanza amiloide in certi animali d'esperimento, come ci dimostrano i reperti del *Krawkow*, del *Maximow*, dello *Schtschegolew*, del *Davidsohn*, del *Lubarsch* e del *Nowak;* tuttavia ci si deve domandare se abbia ragione il *Krawkow* quando sostiene che nei polli specialmente la degenerazione amiloide si può ottenere sempre e senza eccezione mediante iniezioni di stafilococco piogeno aureo, o il *Lubarsch* che tale opinione combatte, avendogli dimostrato i suoi risultati non costanti che non c'è ancora alcun mezzo onde poter produrre con approssimativa sicurezza la degenerazione amiloide, e che parecchi fattori devono essere presi in considerazione, quali la virulenza del microrganismo, la composizione del terreno di cultura e specialmente la diversa predisposizione degli animali d'esperimento.

* * *

Io sono stato indotto da queste divergenze di opinioni a tentare anzitutto il metodo del *Krawkow* delle iniezioni di

culture di stafilococco piogeno aureo nei polli, nei conigli e nei topi. I risultati non essendo stati incoraggianti, visto cioè che per la produzione dell'amiloide non hanno servito nei miei esperimenti le culture di stafilococco piogeno aureo, come non hanno servito le iniezioni di pus fresco tolto da focolai diversi, tentai di produrre delle alterazioni negli albuminoidi del sangue e dei tessuti e di vedere anche se in seguito ad esse l'azione dei veleni dei detti microparassiti si rendesse più sicura. Come tali esperienze furono condotte, cioè le sostanze usate e le modalità colle quali furono fatte le iniezioni nei vari animali, mi sembra opportuno di esporre con qualche dettaglio.

Un pollo ricevette, nello spazio di due mesi, nove iniezioni intramuscolari di culture pure di stafilococco piogeno aureo, nella quantità di 1 cm^3 a 10 cm^3; un altro pollo per lo spazio di due mesi fu iniettato con stafilococco piogeno aureo: cinque furono le iniezioni, e dai 4 cm^3 della prima si arrivò progressivamente a 15 cm^3 nell'ultima. Altri tre polli ricevettero ognuno 10 iniezioni (di 2-20 cm^3) di cultura pura in brodo di stafilococco piogeno aureo, rimanendo in vita oltre tre mesi.

Neppur l'ombra di degenerazione amiloide si presentò in nessuno degli organi all'esame macroscopico; la milza ed il rene avevano sempre aspetto e consistenza normale, il fegato era in preda spesso a degenerazione grassa.

Non furono tuttavia mai trascurate le reazioni colle sostanze coloranti sopra sezioni di questi organi fatte col microtomo congelatore a fresco, cioè senza l'intervento di nessun liquido fissatore, perchè sappiamo esser questo il migliore, o forse l'unico procedimento per mettere in evidenza le minime traccie di sostanza amiloide. La soluzione di iodio non colorò mai gli organi di pollo in rosso-mogano e la soluzione acquosa di metilvioletto e di dalia diede sempre una tinta violetta uniforme.

Le pareti dei vasi e il connettivo del fegato, e più di rado della milza, e la porzione midollare dei reni assumevano un altro colore, che era piuttosto un violetto più pallido leggermente tendente al rosa, che il vero colore rosa dell'amiloide. Oltre alla considerazione, che è subito opportuno di fare, che la sostanza amiloide cioè si colora bensì in rosa, ma si presenta generalmente a blocchi od a piccole zolle talora cristalliformi, mentre qui nessuna alterazione si nota nella disposizione e nella struttura degli elementi dei tessuti, e tanto meno si notano negli organi delle strie o degli accumuli di sostanza omogenea, bisogna escludere anche che si tratti di una eventuale sostanza preformativa

dell'amiloide, secondo i concetti specialmente del *Davidsohn*, perchè la stessa sfumatura in rosa, che del resto è di tinta assai debole, si vede trattando col metilvioletto gli stessi organi di pollo o di altri animali perfettamente normali.

Io ho seguito il metodo del *Krawkow*, ho fatto sempre cioè iniezioni intramuscolari; non ho alcun dubbio sulla virulenza delle culture che adoperavo, perchè, oltre a produrre sempre dopo un certo tempo la morte degli animali, le stesse culture mi provocarono degli ascessi nei conigli, come vedremo meglio in seguito: che fossero attive del resto ero convinto *a priori*, avendole sempre adoperate fresche ed isolate da focolai di suppurazioni acute, quali ascessi o adeniti dell'uomo, o esaltate col passaggio attraverso animali.

Come accadde al *Krawkow* stesso, non si produssero mai nei miei polli raccolte purulente, ma soltanto un intasamento nei siti d'iniezione; a differenza però di quanto sostiene il *Krawkow*, posso affermare senza dubbio alcuno che mai ottenni la degenerazione amiloide. Non voglio da questo reperto negativo concludere che il metodo sia sbagliato, chè anzi sono convinto, non fosse altro per l'autorità dei ricercatori che hanno studiato l'argomento, che le iniezioni di culture di stafilococco piogeno aureo producono negli animali d'esperimento, e specialmente nei polli, la degenerazione amiloide. Soltanto mi pare di poter produrre la prova che, come afferma il *Lubarsch*, bisogna rivolgere l'attenzione a diversi fattori, che possono ostacolare la produzione dell'amiloide stessa.

Il medesimo concetto dovrei ripetere per spiegare il risultato negativo ottenuto anche nei conigli, nei quali pure adottai rigorosamente lo stesso metodo di esperimento.

Cominciai coll'iniettare sotto cute mezzo cm^3 di cultura pura in brodo di stafilococco piogeno aureo, isolato dagli stessi focolai di suppurazione acuta che ho ricordato per i polli.

In due conigli l'infezione decorse assai acutamente e la morte sopravvenne non più tardi dell'ottava giornata, dopo un'unica iniezione, la quale tuttavia fu sufficiente a produrre una estesa sacca marciosa

nel punto dell'iniezione, con ascessi multipli negli organi interni, specialmente nel fegato.

In un altro coniglio alla prima iniezione seguì lo sviluppo di un ascesso, e l'iniezione seguente fu praticata quando il primitivo focolaio purulento era in via di guarigione. Alla terza iniezione, di tre cm³ di cultura pura in brodo di stafilococco piogeno aureo, successe la morte tre settimane dopo l'inizio dell'esperimento.

Sopravvisse 5 settimane invece, senza mai presentare ascessi nei siti d'iniezione, un altro coniglio, che ricevette in cinque iniezioni complessivamente circa 50 cm³ di cultura pura in brodo di stafilococco piogeno aureo.

All'autopsia il primo di questi conigli presentava due enormi sacche marciose, una comunicante colla pleura, l'altra col peritoneo, in continuazione ambedue con due diversi punti in cui erano state fatte le iniezioni: l'altro presentava localizzazioni generalizzate negli organi interni di ascessi grandi in media quanto capocchie di spillo. Nessun carattere macroscopico di amiloide e nessuna reazione chimico-colorante su sezioni fatte al microtomo congelatore.

Di questi quattro animali ho desiderato tuttavia di fare un gruppo a parte, perchè risponderebbero essi alle condizioni che si verificarono presso altri autori nello sviluppo dell'amiloide in modo acuto.

Ma neppure, seguendo ben s'intende sempre gli stessi metodi di reazione, misi in rilievo traccie di sostanza amiloide in nessuno degli organi dei conigli, in cui la suppurazione fu cronica. Uno di questi per lo spazio di due mesi ricevette sei iniezioni, seguite dalla formazione in località diverse di tre voluminosi ascessi; un altro durante circa quattro mesi ricevette cinque iniezioni e mostrò pure tre voluminosi ascessi; ed un altro durò in vita tre mesi e mezzo ed ebbe a sopportare 12 iniezioni, sempre naturalmente a dosi crescenti, di cultura pura di stafilococco piogeno aureo, isolato da diversi focolai di suppurazione acuta dell'uomo, e che produssero prima due ascessi, poi non diedero più alcuna reazione. Quest'ultimo coniglio ricevette in tutto circa 100 cm³ di cultura in brodo.

Di amiloide, come ho già detto, neppure traccie, e lo lasciava già sospettare l'assoluta mancanza dei caratteri macroscopici nei diversi organi: assai evidente invece in tutti questi conigli con suppurazione acuta e cronica il color rosa della porzione piramidale del rene trattato con soluzione acquosa di violetto di metile; colorazione rosa però che tosto spariva, per dar luogo al violetto del resto del preparato, quando alla sezione montata in glicerina si sovrapponeva il vetrino coprioggetti.

A conferma di quanto fece osservare il *Petrone*, dirò anch'io, in seguito a ripetute prove tentate sopra reni di coni-

gli perfettamente sani, che si colora in rosa diffuso col metilvioletto la porzione midollare di tale organo; ma debbo aggiungere che questo colore sparisce quando si monta il preparato in glicerina.

Dunque di fronte alle sostanze coloranti usate per la reazione dell' amiloide, gli organi dei sette conigli in cui avevo provocato suppurazioni di durata più o meno lunga, si comportarono proprio come gli organi di coniglio normale.

Lo stesso dicasi per quattro topi, che mi diedero anch'essi risultato negativo, mentre il *Davidsohn* sostiene che i suoi esperimenti gli dimostrarono che essi sono gli animali in cui più facilmente si può produrre la degenerazione amiloide sperimentale. Uno di essi ricevette in un mese cinque e un altro sette iniezioni di cultura pura in brodo di stafilococco piogeno aureo; un altro nove iniezioni in un periodo di due mesi e mezzo; un altro infine quindici iniezioni in circa cinque mesi. Il brodo veniva inoculato sotto cute, cominciando da un quarto di cm^3, fino ad arrivare a 5 cm^3.

Dopo l' esperimento di *Birch-Hirschfeld*, che per il primo trovò la degenerazione amiloide in un coniglio iniettato con pus fresco, questo materiale d' iniezione può dirsi che non fu quasi più adoperato, ad eccezione dei tentativi del *Nowak*, che ottenne qualche risultato positivo nei polli; sebbene anche il *Krawkow* ne consigliasse l' uso, per la considerazione che sono diversi i veleni prodotti da un microparassita nell' organismo da quelli prodotti *in vitro*.

Volli perciò iniettare con pus quattro animali: tre conigli ed un topo: nessuno di questi sopportò tale trattamento per più di un mese. Non potendosi avere sempre pus fresco della medesima natura, come sarebbe stato desiderabile, mi dovetti accontentare di inoculare del materiale proveniente da processi morbosi diversi.

Un coniglio ebbe sei iniezioni: la quantità di materiale arrivò progressivamente a circa 10 cm^3 in una sola volta: tre iniezioni furono di pus proveniente da mastite, dal quale fu isolato lo stafilococco piogeno aureo; il materiale delle altre tre iniezioni fu pus sterile di un ascesso freddo da morbo di *Pott*. Un secondo coniglio durante un mese fu iniet-

tato prima due volte con pus da periostite acuta, poi tre volte con pus da ascesso freddo, fino a 15 cm^3 per volta. Il terzo coniglio ricevette sotto cute tre iniezioni: le prime due di pus tolto da ascesso prodotto in altro coniglio, l'ultima con pus da adenite acuta.

All'autopsia di questi tre animali furono trovate raccolte purulente più o meno estese, che partivano dal sito d'iniezione: pus invece non fu trovato alla necroscopia in nessun punto del corpo nel topo che sopportò le iniezioni di cm^3 1-5 di pus da morbo di *Pott*. In nessuno poi di questi animali si trovarono negli organi nè i caratteri macroscopici nè i microscopici (iodio e metilvioletto) della degenerazione amiloide.

A scopo di semplice tentativo fu associata ancora l'azione dei veleni di due microrganismi; pensai cioè di provocare suppurazioni in conigli tubercolizzati; e per vedere se la degenerazione amiloide, che talora si verifica in individui tubercolosi, sia più probabilmente dovuta al processo tubercolare stesso, o ad una infezione mista, un coniglio lasciai morire dopo quattro iniezioni endoperitoneali abbondanti di cultura attiva di bacillo di *Koch* isolato dall'uomo, in un altro coniglio dopo tre iniezioni di culture di tubercolosi umana, iniettai scarsa quantità di cultura in brodo di stafilococco piogeno aureo. Senonchè mi convinsi che non può nei conigli prodursi un'infezione mista, perchè il processo tubercolare in corso toglie all'animale la resistenza di fronte al secondo processo infettivo; infatti in seguito ad iniezione di scarsissima quantità di cultura dello stesso stafilococco piogeno aureo che era sopportato a dosi molto più alte dagli altri conigli, quello preventivamente tubercolizzato morì dopo due giorni.

All'autopsia questi due animali mostrano una tubercolosi generalizzata, più intensa ed avanzata nel peritoneo e negli organi addominali, nessuno dei quali però presenta i caratteri macroscopici della degenerazione amiloide, nè di questa dà le reazioni caratteristiche.

Non era mia intenzione di occuparmi delle suppurazioni chimiche, essendomi prefisso lo scopo di rischiarare possibilmente qualche punto dell'amiloidosi sperimentale che più si avvicinasse alla degenerazione amiloide dell'uomo, ed è perciò che tentai di riprodurre la tubercolosi e dei processi suppurativi e tossici. Essendosi però in questo Istituto di Anatomia patologica intrapreso uno studio sperimentale sul saturnismo, ed avendo le iniezioni di piombo provocato delle suppurazioni nei conigli, non volli lasciarmi sfuggire l'occasione di esaminarne gli organi.

A dosi progressive in tre conigli furono iniettati da 1 a 10 cgr. di nitrato di piombo al giorno, per il periodo di un mese: due di essi mo-

rirono 4-5 giorni dopo l'ultima iniezione, ed uno dopo 15 giorni; nei punti d'iniezione si erano stabilite delle suppurazioni profonde ed estese, il cui pus esaminato a fresco e coltivato in vari substrati si dimostrò sempre sterile. Nessun organo presentava macroscopicamente qualche carattere della degenerazione amiloide, e negative furono le prove dello iodio e dei colori di anilina su tagli fatti al microtomo congelatore di rene, fegato, milza e muscoli striati.

Così volendo riassumere i risultati ottenuti negli esperimenti fatti per provocare colle suppurazioni chimiche la degenerazione amiloide negli animali, diremo che la possono produrre le iniezioni di olio di trementina (*Czerny*, *Schtschegolew*, *Lubarsch*, *Nowak*), e i fermenti, fra i quali più specialmente il caglio (*Schepilewsky*, *Zenoni*); non l'hanno finora prodotta le iniezioni di olio di croton (*Nowak*), e potremo anche aggiungere le iniezioni di nitrato di piombo.

* * *

Fin qui la ripetizione di esperimenti tentati dai diversi altri ricercatori, dei quali però io fui sempre, diremo così, più sfortunato, non avendo mai ottenuto un risultato positivo, sebbene in modo identico agli altri io procedessi e la tecnica delle ricerche fosse così semplice, da non essere possibile il dubbio che gli insuccessi fossero dovuti ad errori. Sempre più convinto perciò che non si è in possesso ancora di un metodo sicuro per ottenere sperimentalmente la degenerazione amiloide, pensai di cercare questo metodo in modificazioni dell'organismo, provocate coi mezzi che più all'uopo sembravano opportuni, e tali tentativi feci specialmente nei conigli, animali che mi sembra di poter ammettere prestarsi all'esperimento non meno dei polli, dopo che mi sono convinto che neppure in questi l'amiloide si ottiene con sicurezza.

In questo ordine di idee posso confermare che il deperimento non è causa predisponente allo sviluppo della degenezione amiloide negli animali, perchè la maggior parte degli esperimenti che fin qui ho descritto, finirono colla morte specialmente dei conigli, in causa a cachessia e dimagrimento profondo provocato dalle suppurazioni di lunga durata.

Neppure l'anemia grave favorisce l'eventuale produzione di amiloide da parte di veleni bacterici, perchè risultati negativi ottenni in due conigli, di cui uno morì otto giorni dopo una unica iniezione di un cm^3 di cultura pura in brodo di stafilococco piogeno aureo, fatta sotto cute dopo un salasso di 10 cm^3 di sangue, e l'altro 10 giorni dopo 3 iniezioni di cultura in brodo di stafilococco piogeno aureo e due salassi abbondanti.

All'autopsia non rilevai nessun focolaio purulento, profondamente anemici vidi tutti gli organi, nessuno dei quali presentò i caratteri macro- e microscopici dell'amiloide.

Il concetto espresso dallo *Czerny* sull'origine dell'amiloide, che cioè essa derivi dai globuli bianchi carichi della sostanza iodofila, che perciò egli piuttosto che glicogene crede amiloide, mi suggerì l'idea delle iniezioni di glicogene, potendosi pensare che veramente glicogene sia la sostanza iodofila dei globuli bianchi e che probabilmente una delle condizioni per il formarsi della sostanza amiloide consista in una certa ricchezza di sostanza glicogena nel sangue.

Iniettato del glicogene in animali d'esperimento, *Bonn* e *Hoffmann* (1) non ottennero la reazione iodofila nei globuli bianchi, ma la formazione nel sangue, nel fegato e nell'intestino di un idrato di carbonio molto simile all'acrodestrina.

Non credetti tuttavia inutile il mio tentativo, perchè mai, che io mi sappia, furono fatte sugli organi le ricerche chimiche coloranti che io mi proponevo: ora io posso dire che non ebbi alcuna delle reazioni note in presenza dell'iodio e dei colori d'anilina nei due conigli, in uno dei quali fu fatta un'unica iniezione endoperitoneale di 1 gr. di glicogene, nell'altro un'iniezione di 25 cgr. di glicogene nella giugulare e una di 25 cgr. nel peritoneo.

Risultato negativo diedero pure nei riguardi della degenerazione amiloide e un coniglio che nel periodo di circa due mesi ebbe a sopportare quattro abbondanti salassi e quattro iniezioni endoperitoneali di glicogene, di $^1/_2$ gr. ciascuna; e un

(1) Vedi Czerny, *Zür Kenntniss der glykog. u. amyl. Entartung.* Op. cit.

pollo morto due giorni dopo iniezione di 25 cgr. di glicogene e di tre cm³ di cultura pura in brodo di stafilococco piogeno aureo.

Sarà bene ricordare però che da uno stadio preformativo di sostanza ialina (*Lubarsch*), piuttosto che di sostanza glicogenica, si crede oggi derivare la sostanza amiloide; ma che si vuol ricercare la vera origine di questa degenerazione in alterazioni del sangue. Sebbene non troppo favore abbiano incontrato le idee espresse in proposito dal *Petrone* in base ai suoi reperti sperimentali, le osservazioni fatte su organi umani, specialmente fegati, in preda a degenerazione amiloide, fanno credere all'*Obrzut* (¹) e al *Browicz* (²) che rapporti stretti esistano fra gli elementi del sangue e la sostanza amiloide. Il *Browicz* anzi da esami istituiti su fegati in preda a diversi processi patologici, conclude che l'amiloide è da considerarsi come una sostanza infiltrata nei tessuti e derivata dagli eritrociti estravasati.

Se l'uso di sostanze che dissolvono l'emoglobina o frammentano e distruggono il globulo rosso determinasse la comparsa dell'amiloide, potremmo dire di aver dato una prova sperimentale dell'origine probabile di tale sostanza dai globuli rossi. Ma come il *Cesaris-Demel* e lo *Zenoni* (³), provocando intensa emolisi con iniezioni di speciali stafilococchi e streptococchi, non videro mai le reazioni dell'amiloide, così queste non mi riuscirono mai negli animali in cui furono iniettate quelle sostanze chimiche, più note come determinanti la distruzione dei globuli rossi. Adoperai cioè l'acido pirogallico, che introdotto per via endovenosa alla dose di un grammo uccise in cinque o sei ore un coniglio e alla dose di 25 cgr. lasciò un altro coniglio in vita 3-4 giorni. Il metodo delle iniezioni sottocutanee si mostrò meno pericoloso, perchè un coni-

(¹) Obrzut, *Nouvelles recherches histologiques sur la dégenérescence amyloide.* (Arch. de Médec. expérimen. et d'Anat. Pathol., Marzo 1900).

(²) Browicz-Tadeusz, *Ueber die Herkunft der amyloiden Substanz.* Browicz, *Ueber Herkunft der Amyloidsubstanz. Referate.* (Centralblatt. f. Allgem. Pathol. u. Patholog. Anatomie, Bd. XIII, N. 3, 12 Februar 1902.

(³) Vedi Zenoni, *Amiloidosi tossica ecc.* Op. cit.

glio potè sopportarne due di 25 cgr., fatte a distanza di 5 giorni l'una dall'altra, e la morte sopravvenne due giorni dopo l'ultima iniezione. Ma allorchè in un altro coniglio, iniettato pure sottocute con 25 cgr. di acido pirogallico, si volle vedere se si producesse la degenerazione amiloide determinando insieme alla distruzione dei globuli rossi la presenza nell'organismo di veleni bacterici, e si iniettò a tal uopo, 4 giorni dopo l'acido pirogallico, $^1/_2$ cm^3 di cultura pura in brodo di stafilococco piogeno aureo, isolato da un ascesso acuto, la diminuzione di resistenza causata dalla prima iniezione produsse la morte dopo due giorni.

I caratteri macro- e microscopici della degenerazione amiloide non si notarono come si disse in nessuno di questi animali, e neppure in due conigli che sopravvissero 10-15 giorni a scarse iniezioni di toluilendiamina e di cloridrato di fenilidrazina, e in un cane che ricevette prima un grammo e 8 giorni dopo 4 grammi di toluilendiamina e morì due giorni dopo la seconda iniezione.

Non voglio però attribuire a questi esperimenti una grande importanza, perchè per il prodursi della degenerazione amiloide si ritiene necessario generalmente che gli animali possano vivere a lungo sotto l'influenza di quelle condizioni che si suppongono capaci di determinare la degenerazione amiloide, cosa che non si può certo pretendere di ottenere usando sostanze che dissolvono i globuli rossi.

Fra le prove portate innanzi dal *Petrone* per dimostrare che le reazioni credute caratteristiche dell'amiloide si hanno pure negli organi di animali nei quali si è prodotta distruzione di globuli rossi o si è messa in circolazione nell'organismo emoglobina libera, vi è quella di produrre estese scottature nei conigli.

Volli io invece tentare l'emolisi da calore provocandola in modo più lento col riscaldamento artificiale di un coniglio per un'ora al giorno: portata la temperatura progressivamente nello spazio di 5 giorni a 52°, l'animale morì, il sangue di esso si presentò all'autopsia con quell'aspetto di lacca che assume quando si dissolvono i globuli rossi. In nessun organo

ottenni le reazioni chimiche coloranti caratteristiche della sostanza amiloide.

Quale ultimo tentativo cercai se la degenerazione amiloide fosse trasmissibile dall'uomo agli animali. Emulsione di fegato umano in preda ad avanzatissima degenerazione amiloide fu iniettata in un coniglio e in un pollo.

Il coniglio non resistette, perchè a due giorni dall'unica iniezione di 2 cm³ di emulsione fatta sotto cute seguì la morte. Il pollo invece si mostrò assai resistente; dopo un mese di esperimento gli venne fatta una 5ª iniezione di 15 cm³ della stessa emulsione di fegato, mantenutasi sempre sterile, e 15 giorni dopo lo si uccise. Negative negli organi di ambedue gli animali furono le reazioni della sostanza amiloide.

* * *

Da quanto fin qui ho esposto mi sembra apparire che la descrizione dei miei esperimenti non sia stata inutile. Ho dimostrato se non altro con essi:

1° Che per la produzione dell'amiloide non è sempre sufficiente l'azione dello stafilococco piogeno aureo.

2° Che le alterazioni degli albuminoidi del sangue e dei tessuti provocate dal riscaldamento, dal salasso, dall'iniezione di emulsione di fegato di uomo in preda ad avanzata degenerazione amiloide, dall'iniezione di glicogene, dall'iniezione di svariate sostanze chimiche che provocano la dissoluzione dei globuli rossi, non mi hanno mai prodotto negli animali d'esperimento la degenerazione amiloide.

3° Che tale degenerazione non si è prodotta neppure quando si è cercato che alle iniezioni di culture di stafilococco piogeno aureo preesistessero delle alterazioni degli albuminoidi, provocate allo scopo di vedere se in un organismo modificato l'azione supposta dei veleni di detti microparassiti si rendesse più sicura.

* * *

Non ho voluto trarre quella conclusione, riguardo all'azione dello stafilococco piogeno aureo, che mi avrebbero

dettato i miei esperimenti; non posso cioè sostenere che le culture di tale microrganismo non provochino la degenerazione amiloide. In base ai reperti positivi ottenuti da tanti e autorevoli ricercatori credo più conforme al vero affermare che dette culture non sono sempre sufficienti a provocarla, confermando così per i conigli quanto ammettono tutti gli autori. Non sempre infatti è stata ottenuta la degenerazione amiloide collo stafilococco piogeno aureo nei conigli: al *Lubarsch* per esempio su 8 conigli la prova fallì in 6, e di questo fatto egli trova la ragione nella diversa virulenza dei microrganismi adoperati, nella diversa costituzione dei terreni di nutrizione e nella diversa predisposizione degli animali verso l'amiloide. Alla predisposizione individuale crede anche il *Nowak* che si debba attribuire grande importanza.

Probabilmente per gli stessi coefficienti a me la prova è fallita in tutti i conigli, e non solo in essi, ma anche nei polli. Anche a questi ultimi perciò credo che si possano applicare i concetti del *Lubarsch*, col quale mi sento autorizzato a concludere che la questione dell'amiloidosi sperimentale non è stata ancora definitivamente risolta, perchè manca il mezzo di produrla sempre in modo sicuro.

Settembre 1902.

FRANCESCO COLZI.

In memoria del nostro amato collega e valente collaboratore prof. **FRANCESCO COLZI** lo *Sperimentale* pubblicherà un cenno necrologico dettato dal prof. G. Banti.

DOMENICO CESARE BARTOLINI, *Responsabile.*

Istituto di Anatomia patologica dell' Università di Berna (Prof. Langhans).

NEL TESTICOLO SENILE

CONDUCE

LA LEGATURA DEL DOTTO DEFERENTE ALL' ATROFIA DELL' ORGANO?

OSSERVAZIONI ISTOLOGICHE E CRITICHE

DEL

DOTT. SAVERIO SPANGARO.

Tra i diversi mezzi chirurgici proposti per la cura della ipertrofia della prostata havvi la legatura e resezione dei dotti deferenti.

Non è mia intenzione soffermarmi sul valore curativo di questo metodo, bensì studiare le condizioni istologiche del testicolo, dopo un tale trattamento.

Mentre alcuni chirurghi videro sorgere dopo la legatura del *Vas deferens* l' atrofia dei testicoli, altri al contrario non poterono osservarla, per cui si attribuirono a tale operazione effetti sulla ghiandola seminale del tutto diversi. Ambedue però queste affermazioni fondavansi sopra dati troppo incerti, quali il volume dell' organo a traverso i comuni integumenti od il solo esame macroscopico, dati tali da non permettere deduzioni degne di fede.

Le osservazioni microscopiche invece, le sole che in questo caso abbiano valore decisivo mancano quasi completamente. Infatti risalendo fino al 1786, si trovano le brevi osservazioni di *Brugnone* (4), più tardi quelle di *Gosselin* (8) intorno all'atresia del dotto deferente, nelle quali ambedue gli autori videro persistere la spermatogenesi, nel mentre i testicoli continuarono a presentare la grandezza e l' aspetto normale.

Recentemente *Simmonds* (13), riferendo intorno ad alcune sue ricerche sperimentali sull'argomento, esprime la sua meraviglia nell'aver constatato « come i testicoli di individui, presso i quali vecchi processi gonorroici avevano condotto ad una chiusura completa del vaso deferente e del canale dell'epididimo, erano rimasti, sia macroscopicamente che microscopicamente, poco alterati, così che in alcuni casi si poteva evidentemente, dimostrare la spermatogenesi ». Qui però si trattava di osservazioni indirette in cui il dotto escretore si era venuto gradatamente obliterando e non di osservazioni praticate su testicoli, il cui dotto fosse stato bruscamente chiuso dal chirurgo.

Lo stesso *Simmonds* (13), però ebbe occasione di sezionare un uomo di 63 anni « presso il quale due mesi prima era stato resecato un *Vas deferens*. Egli non potè persuadersi che il testicolo offrisse delle alterazioni, nè macroscopiche, nè microscopiche, le quali fossero da mettersi in rapporto coll'operazione e mentre nella vescichetta seminale mancavano completamente gli spermatozoi, questi invece erano copiosissimi ed in condizioni normali nel testicolo ».

Se si ebbe però rara occasione di studiare le modificazioni sul testicolo dell'uomo dopo la legatura del suo dotto escretore, non altrettanto fu per gli animali da esperimento.

I risultati a cui pervennero su questo campo gli osservatori sono ben lungi dall'essere concordi.

Infatti, per citare i più importanti, *Gosselin* (8), *Godard* (7) non riscontrarono negli animali dopo la legatura del condotto deferente alterazioni importanti.

Similmente *Curling* (6) e *Kehrer* (9) vennero alla conclusione che il testicolo rimane lungo tempo privo di reazione e che solo in un periodo molto tardivo si riconoscono segni di atrofia.

Brissaud (3) al contrario, sperimentando sui conigli, trovava che mentre negli animali isolati dalle femmine il testicolo rimaneva anche dopo la legatura del dotto deferente intatto e non presentava che una sosta nella funzione spermatogenetica, in quelli posti in compagnia delle femmine si dimostravano invece evidenti e gravi lesioni.

Alessandri (1) sperimentando sui cani, osservò come la legatura del canale deferente porti ad una dilatazione dei canali dell'epididimo, a degenerazione grassa degli epiteli, a proliferazione del connettivo ed in un tempo non molto lungo, alla atrofia del testicolo e dell'epididimo.

Ad analoghi risultati giunse *Sackur* (12), senza che però egli potesse dimostrare traccie di proliferazione interstiziale, mentre *Casper* (5), nè sui conigli, nè presso i cani, potè constatare atrofia del testicolo.

Simmonds, valendosi di varie specie animali (ratti, cavie, conigli), ebbe dei risultati fra loro molto contradittorî « non solo presso animali di specie diversa, ma anche fra animali della stessa specie », per cui venne alla conclusione che « in un percentuale di casi differente nelle diverse specie animali il testicolo conserva anche dopo la chiusura del *Vas deferens* la sua attività funzionale, mentre in altri casi va incontro alla atrofia. Noi non conosciamo ancora, dice *Simmonds*, le condizioni secondo le quali è da attendersi un effetto piuttosto che un altro ».

La risoluzione di questo problema si propose *Marassini* (10) in un recentissimo lavoro. Infatti, egli, studiando sui cani, avrebbe trovato che la resezione del dotto deferente, isolato dalla guaina connettivale circostante, non produce sul testicolo che minime alterazioni, invece la resezione della sola guaina col connettivo circostante, anche se il dotto resta pervio, produce una alterazione pronunciata della funzione spermatica.

La resezione del *Vas deferens* colla sua guaina e col connettivo circostante non conduce ad un grado notevole di atrofia, però non si ha mai accenno a fatti di sclerosi (*Alessandri*), che compare invece se viene reciso il nervo spermatico.

Dal confronto di questi risultati, *Marassini* viene ad ammettere la esistenza nel testicolo di due diversi stimoli, uno neurotrofico, al quale presiederebbe specialmente il nervo spermatico, e l'altro neurospermatico (plesso deferenziale). Così la alterazione semplice del secreto ghiandolare non produrrebbe nel didimo alterazione veruna, mentre se alterazioni si hanno nella funzione spermatogenetica, queste dipenderebbero dalla

soppressione dello stimolo neurospermatico, se alterazioni sclerotiche queste dipenderebbero dalla soppressione dello stimolo neurotrofico.

* * *

Devo alla cortesia del prof. *Langhans* la fortuna di aver potuto studiare microscopicamente i testicoli di tre individui affetti da ipertrofia della prostata ed ai quali, a scopo curativo, era stata praticata da intervalli di tempo diverso, la legatura bilaterale del vaso deferente.

Trattavasi di tre individui dell' età di anni 70, — 64, — 69, ai quali erano stati legati e resecati i dotti deferenti rispettivamente *da 12 giorni*, — *da 6 mesi*, — *da due anni e mezzo.*

Nello studio di questi casi mi valsi dei comuni mezzi di ricerca: inclusione dei pezzi in celloidina, colorazione dei tagli colla emateina alluminata ed eosina, — coll'ematossilina ferrica (*Heidenhain*), — col metodo di *van Gieson*, — col metodo di *Weigert* per le fibre elastiche.

* * *

Caso I. — *Uomo di 70 anni, morto 12 giorni dopo la legatura e sezione dei dotti deferenti.* — Prima dell' operazione presentava difficoltà grave nell' emissione dell' urina dipendente da un notevole grado di ipertrofia prostatica.

Il paziente muore dopo 12 giorni dall' operazione e, come risulta dal protocollo, al tavolo di sezione mostrava: condizioni di nutrizione deficienti, tubercolosi polmonare, pleurite fibrinosa bilaterale, trombosi dell' arteria polmonare destra. Nell'apparato genito-urinario: cistite purulenta, ipertrofia della musculatura della vescica, pielonefrite bilaterale, notevole ipertrofia della prostata.

La guarigione delle ferite si era ottenuta *per primam.* I testicoli si presentavano ambedue del loro volume ordinario ed alla superficie esterna dell' organo non esisteva alcuna alterazione. Alla superficie di taglio il parenchima testicolare appariva di colorito grigio-rosso un po' più carico del normale, trasparente.

Nell' epididimo, all' infuori di una piccola cisti, grande come un seme di canape, situata tra la testa dell' epididimo ed il testicolo di sinistra, nulla di anormale.

Esame microscopico (1). — A piccolo ingrandimento si osserva subito come i canalicoli seminiferi per quanto vicini non sieno però fra loro così strettamente stipati come nell' individuo giovane; ne consegue perciò che gli spazii interstiziali sono alquanto aumentati di ampiezza.

I canalicoli seminiferi, visti in sezioni trasversali, non offrono la forma circolare, distesa, come di norma (2) negli adulti, ma essa è irregolarmente circolare, come se i canalicoli si fossero raggrinzati per una diminuzione del loro calibro primitivo; infatti il loro diametro è disceso dalla media di 200-275 μ, come essi posseggono nei giovani adulti, a sole 150-175 μ. Inoltre essendo i canalicoli fortemente ripieni di cellule, non riesce più facilmente distinguere quali di esse facciano parte di quello che chiamo *rivestimento cellulare del canalicolo*, e quali quelle che costituiscono la parte morfologica del *lume del canalicolo stesso*.

La parete dei canalicoli seminiferi è notevolmente ispessita (15-20 μ in luogo di 7-10 μ). Detto aumento di spessore della parete non è completamente assoluto, ma in parte relativo, per quanto dipende dal ritornare su sè stessa della parete, durante la constatata diminuzione di calibro del canalicolo.

Nella parete dei canalicoli seminiferi sono qui nettamente distinguibili due strati (colorazione di *van Gieson*), uno interno, di aspetto jalino, spesso 5-7 μ, descrivente tante piccole pieghe dirette verso il lume, l' altro esterno, fibroso-elastico. Questo risulta formato da 3-4 ordini di cellule appiattite, concentricamente disposte, aventi un nucleo chiaro, ovale, allungato.

---

(1) Nell' esposizione dei reperti istologici dei casi da me illustrati dovrò far spesso ricorso ad un mio precedente lavoro (14), nel quale, avendo studiate le modificazioni istologiche del testicolo umano durante le varie età della vita, troverò termine di paragone e di interpretazione per le alterazioni istologiche che sarò qui per riscontrare.

(2) Usando la parola *normale* intendo riferirmi alle dimensioni, forma, struttura, disposizione ecc., riscontrate nei giovani adulti, in buone condizione di salute.

Dette cellule giacciono racchiuse nelle maglie di un reticolo elastico risultante dall' incontro di numerose fibre e fibrille, le quali presentano qua e là, abbastanza regolarmente distribuiti, dei punti nodali.

La parte elastica della parete dei canalicoli seminiferi si distingue da quella normale per una minore delicatezza del reticolo e per una sua più intensa colorabilità.

Valendoci della colorazione del tessuto elastico (metodo *Weigert*), coll' aggiunta o senza di una seconda colorazione per i nuclei cellulari, si riesce a mettere in evidenza una alterazione del tutto speciale. I canalicoli seminiferi presentano cioè qua e là quelle che ho già altrove (14) illustrate e designate col nome di *ernie* o *diverticoli dei canalicoli seminiferi.*

Si vede cioè in punti circoscritti la parete del canalicolo assottigliarsi bruscamente, come se in quel tratto parte degli strati che la compongono fossero andati distrutti, o le maglie del reticolo fibroso-elastico si fossero rotte. In detti punti si formano allora, sporgenti verso gli spazî interstiziali, per parte degli strati residuanti della parete, delle estroflessioni, od ernie, di forma ovale o sferica, del diametro oscillante tra 40-115 μ.

In queste ernie discendono, di mano in mano che si forma la estroflessione, le cellule proprie del canalicolo, le quali conservano anche nella nuova sede, l' ordine e la disposizione loro abituale.

Il *sacco* o *parete dell' ernia* è formata solo dagli strati periferici della parete del canalicolo, nel mentre lo strato jalino, od interno, si limita a rivestire la bocca ed il collo del sacco, dove improvvisamente s' arresta.

Il lettore potrebbe subito pensare a mettere questa particolare alterazione in rapporto causale col trattamento chirurgico subìto dai testicoli, ma io devo sin d'ora dichiarare che queste ernie, come risulta dal mio precedente lavoro, sono un fatto comune e caratteristico del testicolo senile. Io credo che la genesi di tali ernie sia da ricercarsi nel fatto che nell'inizio del processo di involuzione dell'organo si verificano parziali circoscritte alterazioni o distruzioni del reticolo elastico della parete, il quale di conseguenza offre, in quelle sedi, dei

punti di minor resistenza, a traverso ai quali, dalla pressione interna dei canalicoli seminiferi, viene sospinto il contenuto degli stessi.

Contenuto dei canalicoli seminiferi. — Questo non differisce qualitativamente da quello normale, trovandosi rappresentate tutte le varietà cellulari esistenti presso l'uomo giovane; la differenza sta invece e nella quantità assoluta delle cellule, che si trovano contemporaneamente nel canalicolo, e nel rapporto numerico fra le singole varietà.

Adagiato alla parete trovasi uno spesso strato formato da 5–6–7 ordini di cellule, le quali, sia per il loro numero abbondante, sia per la verificata diminuzione di calibro del canalicolo, riescono ad occuparne quasi interamente il canalicolo.

Tutte le varietà proprie del canalicolo sono presenti: e cioè le *cellule di Sertoli*, gli *spermatogonii*, gli *spermatociti*, gli *spermatidi*, gli *spermatozoi*. Le ultime quattro varietà rappresentano, come si sa, quattro fasi successive del ciclo di evoluzione della cellula del seme, per passare dallo stato di spermatogonio a quello di spermatozoo. La cellula di *Sertoli*, almeno secondo il mio convincimento, non prenderebbe parte diretta ed evidente alla spermatogenesi.

Orbene, nel caso concreto, subito a ridosso della parete trovasi uno strato quasi continuo di *cellule spermatogonie*, di cellule cioè di forma sferica od ovale, a protoplasma granuloso, nettamente limitato, con un nucleo fornito di minuti granuli di cromatina. L'aspetto quindi e la disposizione delle cellule sono normali.

Ad un livello superiore, cioè più verso l'interno, trovansi le *cellule di Sertoli*, le quali si distinguono facilmente da tutte le altre per possedere un nucleo ovale, chiaro, fornito di un grosso nucleolo e per aver limiti cellulari incerti. In generale i nuclei di queste cellule sono disposti con l'asse maggiore, in direzione radiale e in corrispondenza della linea di confine di due cellule spermatogonie contigue.

Più all'interno delle cellule di *Sertoli*, spesso tra l'una e l'altra di queste trovansi irregolarmente disposte a mo' di

pile di 3–6 elementi, le altre varietà: ora sono spermatociti, ora spermatidi, ora spermatozoi; meno spesso nello stesso segmento di canalicolo si osservano contemporaneamente rappresentanti di tutte tre queste varietà.

Gli *spermatociti* si presentavano qui di aspetto normale, cioè come cellule più grandi delle precedenti, distinte per la loro forma sferica, nettamente limitata e per il loro grosso nucleo sferico, fornito di un reticolo cromatico ad anse molto spesse e di frequente in una fase di divisione cellulare indiretta.

Gli *spermatidi* sono cellule parimenti sferiche, ma, come in generale, anche qui facilmente distinguibili dalle precedenti, perchè molto più piccole e perchè il loro nucleo non è così riccamente provveduto di sostanza cromatica.

Da queste cellule prendono origine, per successive trasformazioni, che nel caso presente non si possono ben seguire, gli *spermatozoi*, che offrono però un aspetto normale e a tutti noto. In questo caso il loro numero era superiore a quello che si osserva ordinariamente nei giovani.

Vicino a queste cellule, e più di frequente verso il centro del canalicolo, si osservano cellule in via di degenerazione, cellule cioè sformate, il cui nucleo, o ha assunto in modo diffuso il colore, o la cui sostanza cromatica ora si è frammentata in grumi ineguali, ora si è raccolta a foggia di mezza luna verso un polo del nucleo: altra volta infine il nucleo si è ingrandito per assumere l'aspetto di una vescicola pallida assumente punto o poco, le sostanze coloranti (fenomeni di cariorexi e cariolisi).

Fra le cellule sopraricordate, specialmente nelle parti centrali del canalicolo, è ancora da menzionare la presenza di masse irregolari formate da tenue sostanza granulare.

Per quanto riguarda il contenuto dei canalicoli seminiferi il fatto maggiormeute notevole nel caso presente era: 1° l'addensamento delle cellule dei canalicoli seminiferi, molto superiore a quello che si osserva in condizioni normali; 2° il prevalere in un dato segmento di canalicolo, di una data varietà cellulare, in luogo del contemporaneo coesistere di più, o di tutte le descritte varietà, come nel testicolo normale.

Devo però fare osservare, per la giusta interpretazione del reperto istologico, che questi due fatti se sono anormali per l'uomo giovane, sono invece comuni al *testicolo senile*, quando questo non abbia subìto gradi notevoli di involuzione, e che quindi le alterazioni finora riscontrate più che al trattamento chirurgico subìto dall'organo devono essere attribuite all'età dell'individuo.

Tessuto interstiziale. — Gli spazî interstiziali esistenti tra i singoli canalicoli mostransi qui alquanto più ampi che nel testicolo normale, il quale fatto verificandosi abbastanza costantemente nel testicolo senile, io inclino a ritenerlo come dipendente dalla diminuzione di calibro dei canalicoli seminiferi.

Il connettivo interstiziale è solo in misura lievissima aumentato, a giudicare dal più frequente incontro di fibre e fibrille a decorso ondulato. Anche le cellule interstiziali si incontrano in maggior copia che nel testicolo normale. Esse si presentano sotto la loro caratteristica disposizione, sempre meglio dimostrabile nel testicolo senile che in quello giovanile, cioè in gruppi (che qui sono formati da 15-30-60-100 elementi) nei quali le singole cellule si trovano racchiuse, come io ho descritto (14), in una specie di rete, le cui maglie vengono costituite dalle fibre connettivali vicine che insinuandosi tra cellula e cellula le circondano adattandosi alla forma delle cellule stesse.

Le cellule interstiziali mostrano nel caso presente una forma rotonda od ovale, un grosso nucleo chiaro, nucleolato, il protoplasma granuloso, riccamente fornito di grossi granuli di pigmento giallo.

Merita ancora di essere notato un legger grado di arteriosclerosi limitata ai soli tronchi arteriosi maggiori.

Rete testis. — Questa si presentava qua sotto forma di canali larghi 50–70 μ., là di ampie lacune (300-350 μ.) irregolari, fra loro in comunicazione anastomotica. L'epitelio di rivestimento era cilindrico basso.

La maggior parte degli spazî della *rete testis* era priva di un contenuto; solo in qualche punto si incontravano degli

spermatozoi immersi in una sostanza granulosa e frammisti a cellule (spermatociti e spermatidi) alterate, provenienti dai canalicoli seminiferi. Alcune di queste anzi si erano fuse insieme e, cementate da una tenue sostanza jalina, avevano formato dei grossi *conglomerati*, ovalari o sferici, di 50-250 μ di diametro, nei quali, oltre ai nuclei mal conservati delle predette cellule, erano rimasti impigliati anche degli spermatozoi.

Già ebbi altra volta occasione (14) di incontrare simili imagini nel testicolo senile ed ho allora supposto che, venendo nei vecchi il liquido seminale più lentamente preparato e condotto innanzi nelle vie di espulsione (epididimo e vescichette seminali), sia in tal modo favorito l'agglutinarsi ed il fondersi insieme di più elementi morfologici così da dare origine ai ricordati *conglomerati cellulari*.

Epididimo. — La disposizione dei *coni vasculosi* ricorda in questo caso quello che ordinariamente si riscontra nel cosiddetto *testicolo senile normale* (14), in quel testicolo cioè che secondo la mia distinzione, conserva a differenza del testicolo in via d'atrofia, una struttura solo lievemente differente dalla normale.

I *coni vasculosi* si mostravano infatti rivestiti da un epitelio cilindrico, formante qua e là, per una diversa altezza delle cellule, dei leggeri sollevamenti a forme di cono o di papilla.

L'epitelio possedeva un protoplasma granuloso tingibile intensamente in rosa dall'eosina. In alcuni tratti l'epitelio era provvisto di grossi e numerosi granuli di pigmento giallo nerastro, in altri i granuli erano sbiaditi, ma occupavano di preferenza la metà centrale della cellula.

Alcune cellule epiteliali, distribuite senza ordine tra le altre, erano fornite di brevi e sottili ciglia.

Il lume dei *coni vasculosi* era occupato parzialmente da una specie di goccioline sferiche, ora jaline, ora granulose, di diametro oscillante tra 5-15 μ.

Talvolta tra queste vedevansi distribuite delle cellule rotondeggianti, ora a nucleo piccolo intensamente colorabile, ora

invece a nucleo vescicoloso, pallido, con vacuoli; cellule che interpretai come provenienti dai canali seminiferi.

Vi erano anche *cellule a più nuclei*, o conglomerati di cellule, simili a quelli di cui sopra feci parola, ma alquanto più piccoli (30-45 μ di diametro).

Il canale dell' epididimo si presentava rivestito da un alto strato regolare di cellule cilindriche fornite di lunghe ciglia. Intercalate tra le estremità basali di queste si vedevano, come di norma, delle piccole cellule rotondeggianti od ovali. I nuclei delle prime cellule si trovavano ordinati in 2-3 livelli diversi.

Mentre in alcuni tratti il canale dell' epididimo mostravasi vuoto, in altri esso era occupato da un numero grandissimo di spermatozoi fra loro addensati. Fra questi non mancavano gli elementi morfologici descritti nella *rete testis* e nella testa dell' epididimo.

Nei punti dove il canale dell' epididimo possedeva un abbondante contenuto, notavasi una leggiera dilatazione di questo (500-600 μ di diametro in luogo di 300-350) ed una certa compressione dell' epitelio, che era più basso che nelle altre parti (40-45 μ).

Gli spazî intercanalicolari dell' intero epididimo, erano poco ampî, trovandosi le singole sezioni, sia dei coni vasculosi, che del canale dell' epididimo, quasi dovunque a mutuo contatto.

Il connettivo interstiziale non era aumentato nè alterato; qua e là si scorgevano delle tipiche *Mastzellen*, fatto del resto che quasi sempre osservai nel testicolo senile.

Vaso deferente. — Il vaso deferente, nella sua prima porzione, quindi al disotto della legatura, manca di un contenuto, il lume non è punto dilatato (275-300 μ) e la mucosa mostra, anche in questo caso, la sua caratteristica disposizione in pieghe longitudinali.

Le cellule cilindriche della mucosa hanno un bell' aspetto cilindrico (35 μ d' altezza), con grossi nuclei ovali, disposti in un solo ordine. Sulla membrana propria, intercalate tra le prime, trovansi delle piccole cellule ovali, a nucleo sferico. Il protoplasma cellulare è granuloso e si tinge in rosa coll' eosina.

Nella sottomucosa si può dimostrare fortemente sviluppato quello strato di fibre elastiche da me illustrato e che, come ho fatto notare (14), comincia a svilupparsi solo col sorgere della pubertà.

La tonaca muscolare, spessa 700 μ, lascia distinguere due soli strati di fibre, uno longitudinale esterno, l'altro circolare interno: solo nella sottomucosa si scorgono subito all'esterno dello strato elastico sottomucoso, poche e disperse fibre muscolari, dirette longitudinalmente.

L'avventizia è rappresentata da poco connettivo fornito di vasi.

I due testicoli offrono all'esame istologico sostanzialmente lo stesso reperto.

* * *

Caso II. — *Testicoli di uomo di 64 anni, asportati dopo 6 mesi dalla legatura e sezione dei dotti deferenti.* — Il paziente presentava già da oltre un anno disturbi dipendenti da ipertrofia della prostata, allorquando venne operato dal prof. *Girard*, dell'Università di Berna, da ambedue i lati di legatura e resezione del *Vas deferens.*

In breve lasso di tempo dopo l'operazione il paziente potè emettere da sè l'urina, ciò che prima non era possibile.

Questo miglioramento si mantenne anche in seguito, ma poichè subentrarono forti dolori, che il paziente riferiva ai testicoli, venne, dopo 6 mesi dalla prima operazione, completamente castrato.

Esame macroscopico. — I due testicoli sono di grandezza diversa.

Il *testicolo destro*, più grande, lungo cm. 4, largo ed alto 2, 5 cm., presenta alla superficie di taglio il suo tessuto alquanto molliccio, di colorito grigio-brunastro, con prevalenza del colore grigio.

L'epididimo corrispondente mostra numerose piccole cavità, con un contenuto chiaro.

Il *testicolo sinistro* è più piccolo (lungo cm. 2,8), tuttavia conserva la forma propria dell'organo.

Alla superficie di taglio appare in gran parte bianchiccio, splendente, solo in alcuni punti circoscritti, verso la *rete testis*, presenta il colorito del parenchima testicolare.

Nulla di notevole nell'epididimo.

Esame microscopico del testicolo destro. — La tunica albuginea misura uno spessore un po' superiore al normale (mm. 1 1/2), come frequentemente verificasi nell'età senile: la sua struttura però è normale.

A piccolo ingrandimento, non si rileva alterazione bene apprezzabile nella maggior parte dei canalicoli seminiferi, mentre solo un numero limitatissimo di essi è in preda all'atrofia. Quello che subito e maggiormente attira la nostra attenzione e *lo straordinario aumento delle cellule interstiziali*, che erano andate ad occupare e ad ingrandire tutte le lacune esistenti tra un canalicolo seminifero e l'altro, così che questi si mostravano in tutto l'organo separati da cordoni e grossi accumoli di cellule interstiziali.

Osservati i canalicoli seminiferi a più forte ingrandimento, essi corrispondevano, in sezione trasversa, presso a poco a tubi cilindrici, non però così uniformemente distesi, come si osserva nel testicolo normale.

La parete dei canalicoli si componeva di 3-4 strati di cellule lamelliformi, appiattite, di cui nelle sezioni trasverse apparivano i nuclei bastonciniformi, mentre gli stessi, visti dalla superficie, lasciavano vedere quelle strane forme a mo' di rene, di lettera L, a cifra 8, ad anello, che io ho già descritto nel testicolo normale (14).

All'interno di questi strati appariva una lamella jalina, spessa 4-5 μ, la quale, come anche nel caso precedente, non era perfettamente parallela agli strati esterni della parete, ma descriveva dei leggeri sollevamenti o pieghe, dirette verso l'interno del canalicolo, come se questo fosse tornato su sè stesso. Il calibro infatti era di 180-200 μ in luogo di 200-260 μ, come di norma.

Tra le cellule lamelliformi della parete notavasi, colla co-

lorazione di *Weigert*, un reticolo elastico, che anche qui come nel caso I°, differiva dal normale per essere formato da fibrille più grosse e più intensamente colorate.

Lo spessore complessivo della parete era di 16-18 μ, cioè notevolmente superiore a quella dell'uomo giovane, ma eguale presso a poco a quella che riscontrasi in questa età.

Venendo al *contenuto dei canalicoli*, questo ricorda per la disposizione, pel numero dei suoi componenti, abbastanza da vicino quello che si incontra nel giovane adulto.

Per evitare ripetizioni accennerò soltanto alle note speciali del caso e che lo differenziano sia dal reperto precedente, come anche da quello del testicolo normale.

Mentre nel caso I° colpiva una eccezionale ripienezza dei canalicoli, così da essere occupato quasi completamente l'intere lume, nel caso presente le cellule sono meno abbondanti. Questa minore abbondanza non riguarda però tutte le varietà cellulari. Le cellule infatti collocate alla periferia del canalicolo, cioè gli spermatogoni e le cellule di *Sertoli*, e che secondo la mia distinzione costituiscono la *parte fissa* del canalicolo seminifero, sono per numero e disposizione normali.

La *parte mobile* o *variabile*, formata da tutte le altre varietà morfologiche, cioè dagli spermatociti e spermatidi, è quella che invece scarseggia.

Per questa minore abbondanza cellulare ne veniva di conseguenza che riusciva più evidente la parte centrale del canalicolo, detto altrimenti *lume del canalicolo*.

Nel lume esistono insieme a discreta quantità di spermatozoi poche cellule, che dalla loro forma si riconoscono ancora, sebbene alterate, per spermatociti e spermatidi staccatisi dal rivestimento cellulare del canalicolo ed in via di degenerazione.

Colla colorazione per le fibre elastiche, si riscontravano qua e là delle cosidette *ernie dei canalicoli*, però non con frequenza maggiore di quella che suole intervenire nella maggior parte dei testicoli senili.

Fatta la colorazione coll'ematossilina ferrica (*Heidenhain*), si mettevano in evidenza, in discreto numero dei cristalli di

Charcot nelle cellule spermatogonie e nelle cellule di *Sertoli*, dei piccoli cristalli sottili, lunghi circa 2 μ, appaiati e disposti di solito l'uno parallelo all'altro o sotto leggero angolo, e corrispondenti completamente a quelli che per primo ho notato (14) nel testicolo degli adulti.

Accanto ai canalicoli dalla descritta condizione, e che occupavano la grande maggioranza dell'organo, ne esistevano *altri nei quali il processo di atrofia si era spinta allo stadio più avanzato* (atrofia di 3° grado della mia distinzione (14)).

Tali canalicoli, di diametro molto inferiore a quello dei precedenti (80-90 μ), si presentavano come cordoni tortuosi, raggrinzati, ripieni di sostanza jalina. Da detti canali erano scomparse completamente le cellule specifiche, non rimanendo di essi che la sola parete, anche questa profondamente alterata.

Essa infatti è ridotta ad un alto alone jalino, limitato alla periferia da uno strato di cellule appiattite (cellule della parete) contenute in un sottile e mal conservato reticolo elastico. Il lume del canale era rappresentato da una semplice fessura lineare e, come si disse, il diametro era disceso dal primitivo di 200-260 μ ad uno di sole 80-90 μ.

Detti canalicoli atrofici non si rinvenivano dovunque, ma di preferenza, come di consueto verificai nel testicolo senile, alla superficie interna dell'albuginea e lungo i setti.

Stroma. — L'alterazione più notevole era l'aumento straordinario delle cellule interstiziali, aumento esteso a tutto l'organo, ma più specialmente nei punti dove giacevano i canalicoli atrofici.

Le cellule interstiziali erano in qualche punto così numerose da formare accumoli tanto grandi da essere riconosciuti sui preparati, anche ad occhio nudo (mm. 1-1,5 × 0,8).

Le cellule interstiziali avevano qui il loro aspetto abituale, erano cioè grosse cellule (20 × 27 μ) ben limitate, di forma ovalare, a grosso nucleo, vescicoloso, fra l'ovale e lo sferico, fornito di un grosso nucleolo.

Le cellule erano qua e là ripiene di grossi e disuguali granuli di pigmento giallo-scuro e in qualche punto, colla colorazione di *Heidenhain*, potevansi dimostrare dei cristalloidi

di *Reinke*, sotto forma di bastoncini tozzi, ineguali, ad estremità arrotondate, lunghi spesso quanto la cellula che li conteneva.

Nel caso speciale riusciva evidentissima una specie di reticolo nel quale erano innicchiate le cellule interstiziali. Meglio che con altre colorazioni, con quella di *van Gieson*, si poteva vedere come ogni gruppo di cellule interstiziali fosse suddiviso in sottogruppi mediante sottili fascetti di fibre connettive. Dalla periferia di detti fascetti penetravano, tra cellula e cellula, delle fibrille, dall'incontro delle quali risultava una rete, nelle cui maglie giacevano le cellule. Lungo il decorso delle fibre si vedevano spesso distribuiti dei nuclei che sembravano circondati da tenui lamelle di protoplasma. Insieme alle fibre decorrevano spesso delicati capillari sanguigni.

Prima di terminare la descrizione voglio a questo punto esporre un'altra particolarità offertami dall'osservazione di questo caso e che non mi sembra priva di interesse.

Recentemente *von Bardeleben* (2) ha sostenuta la possibilità di una immigrazione delle cellule interstiziali dell'uomo nell'interno dei canalicoli seminiferi, dove esse diventerebbero le cellule di *Sertoli*, e *Plato* (11) ha descritto nella parete dei canalicoli, degli speciali pori o canali.

Benchè io non avessi mai potuto confermare queste due osservazioni durante le mie precedenti ricerche (14), tuttavia anche in questo caso, dove le cellule interstiziali avevano assunto uno sviluppo così esagerato, ho insistentemente ricercato imagini le quali potessero dimostrarmi la osservazione di *von Bardeleben*.

La mia ricerca riuscì sempre infruttuosa, nel senso che io non ho mai potuto trovare figure le quali mi lasciassero supporre l'immigrazione delle cellule interstiziali nei canalicoli seminiferi in condizioni normali o quasi, come avrebbe osservato *von Bardeleben*.

Una reale immigrazione delle cellule interstiziali nei canalicoli seminiferi ho potuto invece sicuramente constatare in questo, come precedentemente in altri casi, ma in condizioni del tutto

speciali: *la ho potuto cioè osservare solo presso i canalicoli fortemente alterati dal processo di atrofia.*

Infatti della robusta e fitta rete elastica della parete non rimane presso i canalicoli atrofici che uno strato sottile periferico, a maglie ampie e rotte, mentre il resto si converte in una sostanza jalina. La resistenza che in questi casi può opporre la parete è notevolmente diminuita. Se ora con questa alterazione, coesiste, come spesso ebbi occasione di osservare durante il processo di atrofia, un aumento delle cellule interstiziali (14), solo allora si può indubbiamente constatare l'emigrazione di questi elementi verso l'interno dei canalicoli.

Si vedevano in questo caso le cellule interstiziali passare da prima tra le maglie della malconservata rete elastica del canalicolo, più tardi prender posto nello strato jalino, per penetrare finalmente nel lume stesso del canalicolo. Questo fatto si era in qualche punto verificato in sì larga misura da mascherare anche le parti superstiti degli alterati canalicoli atrofici, e solo ricorrendo alla colorazione del tessuto elastico, si poterono rintracciare in mezzo ad accumoli di cellule interstiziali, resti di canalicoli seminiferi, che altrimenti in quel punto non si sarebbero supposti.

Un'altra importante alterazione e tutta speciale del caso, era la *esagerata dilatazione dei vasi e spazî linfatici di tutto l'organo.*

Se si portava infatti l'attenzione nelle lacune interstiziali, e più specialmente lungo i setti, alla faccia interna della tunica albuginea, nelle sedi cioè dove decorrono i maggiori tronchi vascolari del testicolo, dovunque era possibile osservare la presenza di 2–3–4 spazî vuoti, di forma ovale o circolare, di diametro variabile, alcuni piccoli, di 20–50 μ. di larghezza, altri grandi (200–300 μ.), spazî limitati da una sottile lamella connettiva, fornita qua e là di nuclei allungati.

Essi non potevano essere interpretati che come vasi o lacune linfatiche, enormemente dilatate, le quali, secondo anche la supposizione di *Ranke*, cercavano scaricare per questa via la parte liquida dello sperma che non poteva percorrere le vie naturali, chiuse.

Vasi sanguigni. — Le arterie maggiori dell'organo mostravano un leggero grado di arteriosclerosi. Si notava cioè una diminuzione di numero e di spessore delle fibre elastiche componenti la membrana elastica interna, diminuzione limitata di preferenza a quei punti dove la tunica intima si era ispessita per neoformazione di fibre connettivali, dirette quasi tutte longitudinalmente.

In coincidenza coi punti di maggiore proliferazione dell'intima, la membrana elastica interna presentavasi talvolta completamente distrutta, ma ciò non si verificava mai per più di $^1/_6$–$^1/_5$ dell'intera periferia.

Nei punti di ispessimento dell'intima, questa assumeva, in sezioni trasverse, una figura a mezza luna.

Nelle altre due tonache della parete arteriosa, non si vedevano gravi alterazioni.

Le arterie di medio e piccolo calibro, insieme col sistema venoso dell'organo, non lasciavano vedere modificazioni istologiche importanti.

Rete testis. — I tagli condotti a traverso questa fanno vedere i canali e le lacune che la compongono alquanto dilatate ed oscillanti tra un'ampiezza di 15–30 μ a quella molto maggiore di 270-350 μ. Queste grosse lacune si trovavano di preferenza verso la superficie dell'organo.

L'epitelio di rivestimento può dirsi cilindrico, senza avere dovunque la stessa altezza, poichè in un punto, senza regola costante, si avvicina a quello cubico, in un altro presenta decisamente un aspetto cilindrico.

Molte lacune sono vuote, altre mostransi ripiene di un numero straordinario di spermatozoi, immersi in una massa omogenea che si lascia tingere in rosso dall'eosina.

Epididimo. — *I coni vasculosi* si presentano sotto due diversi aspetti, a seconda che posseggono (A) o meno (B), un abbondante contenuto.

Questi ultimi (B) sono canali di 160–170 μ di diametro, mostrano un rivestimento epiteliale descrivente dei leggeri sollevamenti a guisa di papille ed hanno un contenuto non

molto copioso, rappresentato da goccioline sferiche od ovali, ora chiare omogenee, ora granulose, di grandezza variabile (2-12 μ). In mezzo a queste sono distribuiti scarsi spermatozoi.

Le cellule del rivestimento epiteliale hanno una forma cilindrica, con l'estremo centrale lievemente rigonfio ed arrotondato. Il protoplasma è granuloso e nella metà interna della cellula si vedono sparsi grossi granuli di pigmento.

I canali dell'altra maniera (A) sono più ampi (330-440 μ) perchè dilatati (A), e modificati nel loro aspetto dall'abbondante contenuto. L'epitelio è parimenti cilindrico, ma più basso (20 μ in luogo di 27-28 μ), ha un protoplasma scuro ed il rivestimento epiteliale non descrive, come sopra, alcuna prominenza, ma si mantiene parallelo alla membrana propria, per cui i canalicoli in sezioni trasverse, hanno una forma circolare.

A differenza dei primi canali qui il contenuto è ricco e rappresentato da masse di sostanza omogenea nella quale è disseminato un numero grande di spermatozoi.

Solo in via eccezionale ha in qualche punto la dilatazione raggiunto proporzioni maggiori, quasi cistica, raggiungendo le sezioni 1,2-2-2,5 mm. di diametro; anche qui l'epitelio è basso, il contenuto però è del tutto simile al precedente.

Corpo e coda dell'epididimo. — A somiglianza di quanto si notò nella testa dell'epididimo, anche nel corpo e nella coda, composta dal circonvoluto canale dell'epididimo e dalla porzione iniziale del vaso deferente, sono da distinguersi sezioni di aspetto normale seguite ed alternantesi con altre modificate dalla presenza di un copioso contenuto.

Nel primo caso si ha a che fare con canali cilindrici, forniti di una robusta parete muscolare a fibre circolari, rivestite da un epitelio cilindrico vibratile, molto alto (60μ).

In questo era da riscontrare la disposizione anatomica normale e già ricordata nella descrizione del caso 1°.

Nel lume si trovavano numerose goccioline chiare, ora d'aspetto omogeneo, ora granulose, e fra esse molti spermatozoi, rivolti in tutte le direzioni. Nel contenuto del lume vedevasi qua e là una specie di grosse cellule fornite di 8-10

nuclei, di aspetto diverso e che già interpretai come risultanti dall'agglutinamento di più cellule.

I canali dell'altra forma cioè quelli modificati da un abbondante contenuto, hanno un diametro ed un lume maggiore (un lume di 320-340 μ in luogo di uno di 120-130 μ), una parete muscolare più distesa e quindi più sottile (18-20 μ in luogo di 28-30 μ) uno strato epiteliale più basso (28–30 μ in luogo di 55–60 μ).

Il contenuto non differisce dal precedente, che per esser molto più abbondante.

Nel *vaso deferente* è degno di nota: 1° una discreta ripienezza del lume mediante un contenuto simile, ma non eguale, a quello incontrato nelle parti precedenti, contenuto che suole normalmente mancare nel vaso deferente, 2° la mancanza di pieghe longitudinali da parte della mucosa, essendo stato anche il vaso deferente disteso dal liquido seminale, che non potè essere espulso. La dilatazione però del vaso deferente non era molto pronunciata (il lume misurava 450 μ in luogo di 200–250 μ) opponendosi a ciò la spessa parete muscolare ed il robusto strato elastico sottomucoso, di cui già feci menzione.

Quanto al contenuto, osservai che, a differenza di quello dell'epididimo, la parte morfologica, cioè spermatozoi e cellule, scarseggiavano, ed anche quella esistente non si lasciava così bene tingere coi colori nucleari. Il contenuto era dato di preferenza da una massa granulare.

Nell'albuginea, nel tessuto connettivo interstiziale, nei vasi sanguigni dell'epididimo non riscontrai modificazioni strutturali importanti, solo non devo tacere che lungo il decorso dei vasi sanguigni notavasi, come nel testicolo, la presenza di quelle ampie lacune vuote, di forma ovale o circolare, e che già interpretai come spazî linfatici dilatati.

* * *

Caso II. — *Testicolo sinistro.* — Già all'esame macroscopico questo testicolo si differenziava grandemente sia dall'altro, come anche da uno normale, per la sua piccolezza e per

l'aspetto bianco splendente, uniforme, che presentava alla superficie di taglio.

Esame microscopico. — La tunica albuginea ha uno spessore notevolmente superiore al normale (1,2 mm. in luogo di 0,4 mm.) e mostrasi formata da fasci di fibre anzi che a decorso diritto, a decorso ondulato.

Percorrendo sezioni complete dell'intero organo, colpisce subito la grave alterazione a cui è andato incontro il parenchima testicolare. Si constata cioè come quasi tutti i canalicoli seminiferi abbiano subìto il processo più avanzato di atrofia (atrofia di 3° grado della mia distinzione (14)) e come solo in poche piccole zone isolate, larghe 1-2-3 mm., sieno ancora rintracciabili gruppi di canalicoli seminiferi in grado di atrofia meno avanzata.

Per i canalicoli fortemente atrofici mi riferisco a quanto dissi parlando dell'altro testicolo.

Per gli altri pochi canalicoli meno alterati, noterò come solo in una piccola parte di questi si potesse ancora constatare la persistenza della spermatogenesi, mentre negli altri le cellule si erano ridotte ai due soli elementi fondamentali, alle cellule spermatogonie cioè ed alle cellule di *Sertoli*, e che, secondo le osservazioni di altri e mie, sono da ritenersi gli elementi meno labili del canalicolo seminifero, gli ultimi a scomparire durante il processo di atrofia senile.

La disposizione delle cellule però, anche in questo caso, come sempre osservai (14), era quella loro propria: lungo la parete del canalicolo cioè si trovavano gli spermatogonî ed intercalate tra queste le cellule di *Sertoli*, subito riconoscibili per il loro grosso nucleo ovale chiaro, fornito di un grosso nucleolo e per avere i contorni cellulari mal definiti.

Da queste imagini si poteva facilmente dedurre che il processo di atrofia aveva già invaso tali canalicoli, senza aver ancora però raggiunto quel grado così avanzato che prima vedemmo diffuso a gran parte dell'organo.

Stroma. — Il tessuto interstiziale era poverissimo di elementi cellulari e riusciva formato da scarse fibre connettivali rigonfie, pallide, accompagnate da poche fibre elastiche.

In via eccezionale si incotravano gruppi di cellule interstiziali, le quali trovavansi quasi sempre là dove il processo di atrofia era meno avanzato. Questo fatto mi fece nascere il sospetto che anche in questo testicolo, come nel destro, si avesse avuto precedentemente un aumento delle cellule interstiziali, le quali in seguito, coll' avanzare del processo di atrofia, sarebbero andate anch' esse scomparendo, così come le cellule dei canalicoli seminiferi.

Grave ed evidente era l' alterazione arteriosclerotica che aveva colpito le arterie principali del testicolo. Essa si appalesava sotto forma di un notevole ispessimento della parete vascolare e più precisamente dell'intima, nella quale, all' interno della *membrana elastica interna*, aveva avuto luogo una proliferazione di tessuto connettivo e di fibre e lamelle elastiche. Delle lamelle elastiche neoformate quella più vicina al lume vasale era sempre la più spessa, per sostituire quasi la membrana elastica interna, che era in più punti andata distrutta.

La tunica muscolare mostrava qualche fibra in degenerazione ialina. Le altre arterie di calibro minore ed il sistema venoso, non lasciavano vedere gravi alterazioni di struttura.

Epididimo. — I tagli condotti a traverso la testa dell' epididimo (coni vasculosi) mettono in evidenza dei canali tortuosi rivestiti da un epitelio cilindrico che decorre parallelo alla tunica muscolare. Le cellule epiteliali posseggono un protoplasma denso e talvolta, nella metà interna, si mostrano cariche di granuli e sferule scure o nerastre come pigmento. Presso qualche cellula epiteliale si scorgono anche delle sottili e brevi ciglia.

I canali contengono quasi tutti una massa tenue, omogenea, in mezzo alla quale mancano completamente spermatozoi e cellule.

Il *canale dell' epididimo*, nelle sue diverse sezioni a traverso il corpo e la coda dell' epididimo, mostra nel suo lume una ampiezza alquanto superiore alla normale, dovuta principalmente ad una minore altezza del rivestimento epiteliale (25 μ in luogo 70–80 μ). Il lume è quasi completamente occupato

dalla stessa sostanza osservata nei coni vasculosi. La parete muscolare è normale.

Vaso deferente. — Non lascia vedere alcuna notevole modificazione. Anche la mucosa, che nell'altro testicolo era distesa, è qui invece disposta, come di norma in pliche longitudinali, che impartono al lume un aspetto stellato.

* * *

Caso III. — *Testicolo d'uomo di 69 anni, due anni e mezzo dopo la legatura e sezione del dotto deferente.* — Trattavasi di un individuo affetto contemporaneamente di ernia inguinale sinistra e da 6 anni sofferente di difficoltà nell'emissione dell'urina per constatata ipertrofia della prostata.

Sottoposto alla cura chirurgica dell'ernia viene subito dopo, allo scopo di correggere gli incomodi derivantigli dall'ipertrofia prostatica, operato di legatura di ambedue i vasi deferenti.

Recidivata l'ernia, dopo 2 anni e mezzo, subisce una seconda operazione, durante la quale essendosi trovato il funicolo spermatico aderente ai tessuti cicatriziali, si procede all'orchiectomia.

Disgraziatamente questo testicolo non fu sottoposto ad un esame istologico.

Morto il paziente, dopo 10 giorni dalla seconda operazione, presentava alla sezione:

Scarso il pannicolo adiposo, mediocremente sviluppata la muscolatura.

Negli organi interni: trombosi dell'arteria polmonale sinistra. Macchie tendinee sull'epicardio. Ipertrofia del miocardio. Sclerosi dell'aorta toracica ed addominale. Vescica a colonne. Ipertrofia della prostata, prevalentemente del lobo medio. Lume uretrale compresso lateralmente.

Nel campo della seconda operazione nessuna traccia di processo infettivo-infiammatorio.

Il testicolo del lato destro, cioè quello di cui fu legato e resecato 2 anni e mezzo prima il vaso deferente, lo si trova per forma, grandezza e colorito normale. L'epididimo è al-

quanto più voluminoso che d'ordinario. Il vaso deferente mostrasi nella sede della legatura leggermente aderente agli altri elementi del funicolo.

Alla superficie di taglio il parenchima testicolare è di colorito grigio-rosso, esso è abbondante, molle e sporge dal livello della capsula albuginea, sottile liscia, bianco lucente. La trasparenza del tessuto ghiandolare è ben conservata.

Il taglio condotto lungo l'epididimo fa vedere le sezioni di tanti piccoli canali ripieni di una sostanza semifluida, di colorito biancastro.

Esame microscopico. — Devo dire subito che le alterazioni riscontrate erano molto scarse, così che dal reperto istologico non si sarebbe potuto supporre il trattamento chirurgico a cui il testicolo era stato sottoposto.

Per evitare ripetizioni, darò una breve descrizione. I canalicoli seminiferi presentano dovunque un diametro di 230-280 μ, quindi, si può dire, eguale a quello dei giovani adulti, ma, questo giova notarlo, vista l'età dell'individuo, un diametro superiore a quello che ordinariamente riscontrasi nel testicolo senile, anche quando l'organo siasi conservato nelle migliori condizioni. Io non so se questa maggiore ampiezza dei canalicoli sia da ascrivere all'impedita emissione per la via naturale del liquido seminale o alle condizioni di buona conservazione dell'organo.

La parete dei canalicoli, leggermente ispessita, 12-14 μ in luogo 8-10 μ, lascia sicuramente distinguere un sottile straterello ialino, decorrente parallelo allo strato esterno, fibroso-elastico.

Non essendo il rivestimento cellulare dei canalicoli molto ricco in elementi, spicca più evidente una parte centrale, quasi vuota, il così detto lume dei canalicoli.

Tra le cellule del rivestimento del canalicolo si trovano tutte le già ricordate varietà morfologiche del canalicolo normale, il che significa che nel caso presente la funzione spermatogenetica si era ben conservata.

Per quanto riguarda la disposizione delle cellule, il numero e l'aspetto loro, devo dire che i canalicoli seminiferi si

trovano in condizioni, a prima giunta, poco dissimili dalle normali, ma che tuttavia per alcune caratteristiche modificazioni strutturali, costanti nel testicolo senile, si poteva anche in questo caso differenziare da quello giovanile.

Dal confronto con questo ultimo si poteva infatti anche nel caso presente constatare: aumento di spessore della parete dei canalicoli e sicura distinzione in essa di due strati, uno fibroso-elastico, l'altro ialino, — maggiore e più evidente sviluppo del reticolo elastico della parete stessa, — sviluppo in questa di ernie o diverticoli, — presenza di qualche canalicolo completamente atrofico.

Nelle cellule spermatogonie, colla colorazione all'ematossilina ferrica, si dimostravano i cristalli di *Charcot* e nelle cellule di *Sertoli* i piccoli *cristalli a paio* da me illustrati.

Nello stroma nessuna importante alterazione, all'infuori di un certo aumento delle cellule interstiziali.

Le lacune della *rete testis* sono notevolmente dilatate, alcune raggiungendo una ampiezza di 1-1,3 mm. Esse sono quasi dovunque ripiene di spermatozoi frammiste ai quali si vedono rari spermatociti o spermatidi alterati (figure di cariorexi e cariolisi).

Epididimo. — Tutti i canali delle varie parti in cui si divide l'epididimo sono uniformemente dilatati, ma non in misura tale da provocare alterazioni diverse da quelle che descrissi parlando del caso II, testicolo destro.

Vaso deferente. — Il vaso deferente presenta un lume più ampio del normale (660 μ), che in causa della subìta distensione è di forma circolare, anzi che stellata, per pliche longitudinali della mucosa.

Nel lume del vaso deferente manca normalmente un contenuto, qui al contrario esso è abbondante e rappresentato da un grandissimo numero di spermatozoi. Richiama a questo riguardo l'attenzione il fatto che gli spermatozoi del vaso deferente, a differenza di quelli esistenti nel testicolo, assumono molto debolmente i colori nucleari, ciò che eventualmente sta in rapporto col fatto che gli spermatozoi del vaso

deferente essendo molto più vecchi di quelli dei canalicoli seminiferi, hanno subìto col tempo delle modificazioni di composizione. Sottomucosa, tonaca muscolare ed avventizia normali.

Complessivamente considerato, in base alle mie precedenti ricerche, posso dire che le alterazioni riscontrate erano le minori che si possano aspettare nel testicolo di un uomo di 69 anni.

Nulla di caratteristico vi era che potesse essere ritenuto come conseguenza della legatura del vaso deferente, all'infuori della stasi del seme nell'epididimo e vaso deferente, stasi che era certamente superiore a quella che suole ordinariamente intervenire nel così detto *testicolo senile normale.*

Riassunto.

Dall'esame istologico dei tre casi, riassumendo le cose più importanti, risultò quanto segue:

Caso I. — *Testicoli dopo 12 giorni dalla legatura del vaso deferente.* — In ambedue i testicoli si ebbe lo stesso reperto e cioè: diminuzione del calibro dei canalicoli seminiferi ed ispessimento della loro parete, evidente distinzione nella stessa di due strati, uno fibroso-elastico, od esterno, l'altro ialino, od interno. Abbondante contenuto morfologico dei canalicoli, fino a riempire l'intero lume del canalicolo. Spermatogenesi ben conservata. Presenza di ernie o diverticoli del canalicolo seminifero. Leggiero aumento d'ampiezza degli spazî interstiziali. Lieve grado di arteriosclerosi. Discreta quantità di spermatozoi nelle vie di emissione del seme (*rete testis*, epididimo).

Caso II. — *Dopo 6 mesi dalla legatura del vaso deferente.* — Testicolo destro. Diminuzione del calibro dei canalicoli seminiferi. Ispessimento della parete degli stessi e distinzione in essa di due strati. Spermatogesi ben conservata in quasi tutto l'organo. Aumento straordinario delle cellule interstiziali. Forte dilatazione di tutto il sistema linfatico dell'organo. Replezione delle vie di conduzione del seme (Rete testis, epididimo, vaso deferente) per mezzo di numerosi spermatozoi.

Testicolo sinistro. — Atrofia la più avanzata, diffusa a quasi tutti i canalicoli seminiferi dell' organo. Nelle vie di conduzione del seme, ancora presenza di pochi spermatozoi misti a sostanza amorfa, granulare. Notevole grado di arteriosclerosi, comprendente i tronchi vascolari maggiori.

Caso III. — *Dopo 2 anni e mezzo dalla legatura del vaso deferente.* — Aumento di calibro, relativamente all' età dei canalicoli seminiferi ed ispessimento della parete degli stessi. Spermatogenesi ben conservata in tutto l' organo. Discreto numero di ernie dei canalicoli seminiferi. Notevole replezione delle vie di conduzione del seme (*rete testis*, epididimo, vaso deferente) per parte di numerosissimi spermatozoi e di cellule provenienti dai canalicoli seminiferi. Nelle arterie principali, lievissimo grado di sclerosi.

* * *

Stando a questi resultati nessuno dei testicoli si presentava in condizioni normali, in condizioni cioè eguali a quelle di un testicolo giovanile, benchè in tutti, tranne uno, la funzione spermatogenetica si fosse ben conservata.

Le maggiori e più importanti alterazioni si riscontrarono nei testicoli i cui vasi deferenti erano stati legati da 6 mesi, le minori invece in quel testicolo che era stato operato dal periodo di tempo più lungo, cioè da 2 anni e mezzo e presso il quale sarebbero state eventualmente da aspettarsi le alterazioni più gravi.

Ora sorge spontanea la domanda: le notate alterazioni sono da attribuirsi al trattamento a cui i testicoli furono sottoposti?

Essendomi in passato occupato delle alterazioni istologiche che il testicolo subisce durante le varie età della vita (14), quindi anche delle modificazioni del testicolo senile, posso affermare che, anche nelle migliori condizioni di conservazione, il testicolo dell' uomo mostra costantemente di subire col tempo certi determinati cambiamenti, che sono sufficienti a farcelo distinguere dal testicolo giovanile.

Orbene, quasi tutte le alterazioni di struttura riscontrate

nel I e nel III dei nostri casi, cioè dopo 12 giorni e dopo 2 anni e mezzo dalla legatura dei dotti deferenti, sono da riferirsi all'età dell'individuo e non già al trattamento chirurgico a cui i testicoli erano stati sottoposti.

Non altrettanto sento di poter affermare per ciascuna delle alterazioni descritte nel II caso, cioè in quello operato da 6 mesi di legatura del vaso deferente.

Per questo io devo dire che se una parte delle alterazioni poteva dipendere dalla età soltanto, un'altra avrebbe potuto essere stata determinata dalla legatura del dotto deferente.

I testicoli del caso II risultarono, come si ricorda, in condizioni istologiche molto diverse l'uno dall'altro, cioè in uno la spermatogenesi era ben conservata, nell'altro invece quasi del tutto soppressa ed in preda al grado più avanzato di atrofia.

Il fatto di trovare nel medesimo individuo un testicolo atrofico e l'altro no, potrebbe, secondo mia esperienza (14), verificarsi benissimo indipendentemente dalla legatura del vaso deferente; anzi nello stesso individuo il grado di involuzione senile o quello di atrofia, non comincia, nè procede nei due testicoli di conserva, ma è spesso più pronunciato in uno, che nell'altro. Come scrissi (14), io propendo a riguardare questo fatto come la conseguenza di un diverso grado di alterata nutrizione dell'organo. Si ricordi infatti che anche qui, nelle arterie del testicolo atrofico scorgevasi un forte grado di sclerosi, mentre in quello meglio conservato, l'alterazione dei vasi era scarsa.

Quello però che nel testicolo senile non mi avvenne mai di trovare in misura tanto esagerato, come era nel caso II, testicolo destro, è lo straordinario aumento delle cellule interstiziali e la notevole dilatazione di tutto il sistema linfatico dell'organo.

Io anzi non ebbi mai occasione d'osservare nel testicolo il fatto della dilatazione dei vasi linfatici ed io credo di vedere in questo importante reperto avvalorata l'ipotesi che trovasi nel trattato di fisiologia di *Ranke* (pag. 915), secondo

la quale « gli abbondanti vasi linfatici sembrano parlare in favore della possibilità di un forte riassorbimento che avrebbe luogo nel testicolo, per cui forse, se non avviene alcuna espulsione di seme, una parte del secreto continuamente preparato, può venire di nuovo riassorbito ».

Questi due fatti: aumento delle cellule interstiziali, — dilatazione dei vasi linfatici, — io propendo a riguardarli come una conseguenza dell' impedita espulsione del seme, prodotta dalla legatura del dotto deferente.

Il contenuto liquido del seme verrebbe in questi casi costretto a prendere una via diversa dalla naturale, nel mentre la parte morfologica dovendo sostare ed alterarsi nell'organo e nelle prime vie di conduzione (rete testis, epididimo) potrebbe divenire lo stimolo determinante lo straordinario aumento delle cellule interstiziali, come qui abbiamo constatato.

Perchè poi non si sieno verificate le stesse alterazioni nel caso III°, dove i vasi deferenti erano stati legati da un periodo di tempo molto più lungo e dove la spermatogenesi era anche ben conservata, è cosa che sfugge alla nostra interpretazione. Ciò potrebbe dipendere da fattori individuali, come ad esempio dall' uso diverso dell' organo, e quindi dalla somma diversa di stimoli a cui esso veniva sottoposto nell' uno o nell' altro individuo.

La eccitazione e l' uso sessuale, dopo la legatura del dotto escretore, potrebbe costituire un fattore non indifferente per la ghiandola seminale. L' uso o meno del testicolo porta con sè una somma maggiore o minore di stimoli funzionali e chimici (alterazione del liquido seminale che sosta nell'organo) e di condizioni fisiche (presenza del liquido seminale), stimoli e condizioni che si verificano in maniera del tutto diversa a seconda che la ghiandola è tenuta in riposo od in istato di lavoro.

In favore di queste considerazioni starebbero le citate ricerche sperimentali di *Brissaud* (3). Per esattamente giudicare quindi degli effetti della legatura del *Vas deferens* sul testicolo umano, non dovrebbe essere trascurato anche un altro

fattore, l'età, che con l'uso del testicolo sta il più delle volte in rapporto diretto.

Io ricordo qui soltanto che le maggiori alterazioni si ebbero proprio in quello di tre individui che era meno vecchio (caso II, età anni 64) e che il chirurgo fu costretto all'orchiectomia sei mesi dopo la legatura dei dotti, perchè il paziente si lamentava di fortissimi dolori, dolori che dipendevano forse dallo stato di forte replizione, e quindi di compressione, in cui si trovavano le vie seminali del testicolo e dell'epididimo.

Comunque stieno le cose, benchè i casi da me osservati costituiscano ancora un materiale troppo scarso per poter trarre delle conclusioni attendibili, tuttavia essi portano un contributo alla risoluzione di questo importante argomento.

Io mi limito a far rilevare come, tranne in un testicolo, dove il processo di atrofia era molto progredito, in tutti gli altri, anche dopo la legatura del vaso deferente, si era mantenuta la spermatogenesi. Inoltre le principali alterazioni strutturali riscontrate dovevano quasi tutte essere ritenute come conseguenza dell'età, più che conseguenza del trattamento chirurgico a cui i testicoli erano stati sottoposti. Non si può escludere finalmente che anche dalla stessa causa generale, dall'età, non dipendesse il forte grado di atrofia riscontrata nel testicolo del caso II°.

Da queste osservazioni non risulta punto confermata la opinione generale che la legatura del dotto deferente conduca all'atrofia del testicolo, anzi mi sento inclinato a supporre che: la legatura del vaso deferente praticata sul testicolo dell'uomo vecchio o non conduce il testicolo all'atrofia, o se lo conduce, abbisogna di un tempo abbastanza lungo e forse di speciali condizioni (uso dell'organo).

Letteratura.

1. Alessandri, Le lesioni dei singoli elementi del cordone spermatico e loro conseguenze sulla ghiandola genitale. (Policlinico, Vol. II, Fascicolo 5).
2. Bardeleben (von), Beiträge zur Histologie des Hodens und zur Spermatogenese beim Menschen. (Archiv f. Anatomie u. Entwickelungsgeschichte. His Festschrift, 1897. Suplement).

3. Brissaud, Étude anatomo-pathologique sur les effets de la ligature du canal déférent. (Arch. de phys. norm. et pathol., 1880, pag. 769).
4. Brugnone, citato da Alessandri.
5. Casper, Experim. Untersuchungen über d. Prostata etc. (Berliner klin. Wochenschr., 1897, pag. 582).
6. Curling, The british and foreign medico-chirurgical review, 1864. Citato da Kehrer.
7. Godard, Recherches sur l'appareil séminal de l'homme. Citato da Alessandri.
8. Gosselin, Mémoire sur les oblitérations des voies spermatiques. (Arch. gén. de méd., Paris, 1847).
— Nouvelles études sur l'oblitération des voies spermatiques et sur la stérilité consécutive à l'épididymite. (Arch. gén. de méd., 1853, Tom. II).
9. Kehrer, Beiträge zur Klinischen und exper. Geburtskunde und Gynäkologie, Bd. II, pag. 131.
10. Marassini, Contributo allo studio delle alterazioni del testicolo consecutive alle lesioni del cordone spermatico ed in modo speciale del dotto deferente. (Clinica chirurgica, n. 9, 1902, pag. 738).
11. Plato, Zur Kenntnis der Anatomie und Physiologie der Geschlechtsorgane. (Arch. f. mikr. Anatomie u. Entwickelungsgesch., Bd. 50, pag. 644).
12. Sackur, Kritisch-exper. Beiträge zur modernen Behandlung der Prostatahypertrophie. (Therap. Monatsch., 1896, settembre).
13. Simmonds, Die Veränderungen des Hodens bei experimentellem Verschluss des Samenleiters. (Mittheilungen aus den Hamburgirschen Staatskrankenanstalten, decembre 1898, pag. 241).
14. Spangaro, Ueber die histologischen Veränderungen des Hodens, Nebenhodens und Samenleiters von Geburt an bis zum Greisenalter mit besonderer Berücksichtigung der Hodenatrophie, des elastischen Gewebes und des Vorkommens von Krystallen im Hoden. (Anatomische Hefte, 1 Abteilung, LX Heft, Bd. 18).

Istituto d'Igiene, diretto dal Prof. G. Roster.

RICERCHE SOPRA UN NUOVO MICRORGANISMO FOSFORESCENTE

DEI

DOTT. G. FOÀ (Aiuto) E DOTT. A. R. CHIAPPELLA (Assistente).

Il 5 maggio 1902 ci fu presentato un pezzo di frittata, che per essere stata vista luminosa la sera avanti, aveva destato il sospetto potesse contenere del fosforo. La frittata era stata fatta il venerdì 2, per un bambino della famiglia; ne era stata mangiata solo una parte, e il rimanente era stato riposto nella credenza, dove stette dimenticato fino alla domenica sera, quando quelli di casa notarono il fenomeno della fosforescenza.

La localizzazione esclusivamente superficiale delle chiazze luminose, assai estese, l' assenza di qualsiasi odore sospetto, la mancanza di vapori di fosforo, e il fatto che il bambino non aveva presentato nessun sintomo di avvelenamento, unitamente alla considerazione che la fosforescenza era stata notata 2 giorni dopo la confezione della frittata, c'indussero nella supposizione che il fenomeno fosse dovuto non alla presenza del metalloide, ma allo sviluppo di uno speciale microrganismo fosforescente. Perciò, prima di procedere alla ricerca del fosforo che ci era stata tassativamente richiesta, facemmo un isolamento seguendo il metodo descritto dall'*Abba*.

L'esame chimico, eseguito subito dopo, dette risultato completamente negativo, relativamente alla presenza del fosforo.

* * *

Dalla emulsione della parte più fosforescente della frittata in soluzione fisiologica sterilizzata, furono fatte quattro

diluizioni in scatole del *Petri*, con gelatina salata al 3 °/₀ secondo *Fischer*. Dopo 48 ore di soggiorno in termostato a 20°, la scatola di 1ª diluizione era completamente fluidificata, nella scatola di 2ª diluizione unitamente a piccole colonie puntiformi abbastanza numerose, alcune fluidificanti altre no, si osservarono quattro colonie piccolissime di cui 3 superficiali e una profonda, di colore bianchiccio giallognolo, rotonde e a margine intero, che viste allo scuro si mostrarono fosforescenti di luce verde, assai spiccata per la loro piccolezza. Queste colonie osservate ad un ingrandimento di $\frac{60}{1}$ apparivano regolarmente rotonde a margini netti, a contenuto finamente granuloso di colore giallo verdognolo. La cultura per strisciamento in gelatina salata, solidificata a becco di flauto, ottenuta da queste colonie ci dette subito il microrganismo allo stato di purezza (fig. 4).

Morfologia. — I microrganismi osservati in goccia pendente si presentano in generale molto tozzi, talora a forma di cocco o leggermente ovali, spessissimo isolati, o riuniti a due, più raramente in filamenti di tre o al massimo quattro individui. Alcuni di essi mostrano una leggiera curva.

Le dimensioni oscillano in larghezza da 1 a 1,75 μ, in lunghezza da 1,75 a 3 μ; nella maggior parte la lunghezza è di 2,5 μ; le forme a cocco hanno un diametro di 1-1,5 μ (fig. 1).

Motilità. — Sono dotati di una grande motilità, mostrano cioè un movimento molto rapido di traslazione e un movimento di rotazione sul proprio asse; se ne osservano alcuni che fanno delle vere capriole. Talora avanzandosi rapidamente verso un punto, si arrestano a un tratto e tornano addietro senza rivoltarsi.

Colorazione. — Si colorano facilmente coi comuni colori d'anilina e col liquido di *Löffler*, non resistono al metodo del *Gram*, nè a quello del *Claudius*. In tutte le culture, ma specialmente in quelle più vecchie, si notano sempre molti individui che prendono il colore ai soli poli, lasciando una parte centrale poco colorita o affatto incolora.

Colorendoli col metodo ultimo del *De Rossi* [1], si mette abbastanza facilmente in evidenza un lungo ciglio impiantato a un polo, spesso un po' lateralmente, e che supera da due a tre volte in lunghezza il diametro longitudinale del microrganismo (fig. 3).

Per la colorazione delle ciglia è da notarsi questo fatto. Nella diluizione in acqua distillata della patina culturale sviluppatasi sull'agar, il nostro bacillo perde immediatamente nella quasi totalità degli individui il proprio movimento, e non si riesce perciò a mettere più in evidenza il ciglio. È quindi necessario prendere una quantità piuttosto grande di materiale di cultura, e diluirlo in una quantità d'acqua assai minore alla solita.

Sporulazione. — Per ciò che riguarda la sporificazione, le osservazioni che abbiamo dovuto fare durante il periodo di quasi un anno su questo microrganismo, non ci hanno mai permesso di rilevare la presenza di spore.

Culture sui substrati comuni (20°-22°).

Culture a piatto in gelatina. — Dopo 48 ore si osservano colonie piccolissime ben visibili a occhio nudo, a guisa di punti grigi trasparenti senza nessun colorito giallognolo. Con l'ingrandimento di $\frac{60}{1}$ le colonie appariscono assai chiare, a margini sempre netti, rotonde od ovali, di aspetto finamente granuloso, con una stretta zona marginale più trasparente del resto della colonia. Esse mostrano una leggerissima fosforescenza, che si apprezza solo dopo un soggiorno piuttosto lungo all'oscuro. Dopo circa 15 giorni le colonie hanno raggiunto in gran parte il diametro di $^1/_2$ mm., sono alquanto opache, bianco-sporche. A ingrandimento di $\frac{60}{1}$ mostrano un margine non più perfettamente regolare per la presenza di una fine pun-

[1] Cogliamo l'occasione per ringraziare il dott. *De Rossi*, alla cui cortesia dobbiamo l'avere potuto usufruire del suo metodo, prima che esso comparisse sulla *Rivista d' Igiene e Sanità pubblica*.

teggiatura periferica. La fosforescenza è spenta. La gelatina non viene menomamente liquefatta nè rammollita.

Culture per infissione in gelatina comune. — Nelle 24 ore si ha sviluppo leggiero lungo tutto il canale di infissione, a forma di finissimi granuli staccati. La fosforescenza verdastra sbiadita, sempre molto debole, finisce verso il terzo inferiore dell'infissione. Essa sparisce rapidamente, tanto che già dopo 48 ore è limitata a pochi mm. al disotto dal punto d'ingresso dell'infissione, e in capo a una settimana è totalmente scomparsa. Lo sviluppo invece aumenta sopratutto in superficie, cosicchè dopo un certo tempo la cultura mostra una patina superficiale di parecchi millimetri di diametro, piuttosto spessa, di colore giallastro, a superficie finamente zigrinata, e con leggerissimi solchi a direzione raggiata.

Culture per strisciamento su gelatina comune. — Nelle 24 ore discreto sviluppo lungo tutto l'innesto a punti finissimi non confluenti. La fosforescenza è visibile lungo tutto lo sviluppo, ma molto sbiadita. La patina va aumentando e finalmente costituisce un nastro abbastanza spesso di alcuni millimetri di larghezza, a superficie umida splendente, biancastra. La fosforescenza a questo momento è affatto scomparsa. Invecchiando la patina si estende ancora, diventando però opaca, secca, giallastra.

Culture in brodo semplice. — Lo sviluppo si avverte nelle 30-36 ore, per un leggiero intorbidamento uniforme, che aumenta di poco fino al 3° giorno. Al 6° giorno il brodo è ritornato quasi completamente limpido, e mostra uno scarso deposito bianco al fondo. La fosforescenza non è mai visibile, malgrado un forte e prolungato scuotimento del tubo.

Culture per strisciamento in agar comune. — Nelle 24 ore lo sviluppo è molto scarso; l'acqua di condensazione leggerissimamente intorbidata. La fosforescenza, sbiadita, è limitata alla parte inferiore della cultura; si rende appena visibile nell'acqua di condensazione dopo prolungato scuotimento. Nei giorni seguenti lo sviluppo si accentua e si fa poi assai rigoglioso, sotto forma di piccole colonie rotonde, splendenti, umide, che in seguito confluiscono per formare una patina biancastra umida, splendente. La fosforescenza, pure mantenendosi sempre di luce

sbiadita biancastra, si estende dopo 48 ore a tutta la cultura; verso il 6° giorno scompare completamente.

Culture per infissione in agar comune. — Nelle 24 ore sviluppo ben marcato lungo tutta l'infissione a forma di granuli staccati. La fosforescenza, sbiadita, leggermente verdognola, è limitata al punto d'ingresso del canale d'infissione. Al 6° giorno la fosforescenza è spenta, lo sviluppo lungo il canale è a nastro e in superficie si è formata una patina umida, splendente, uniforme, biancastra attorno al punto d'infissione.

Culture su patate. — Risultato negativo.

Culture su patate alcalinizzate. — Sulle patate alcalinizzate col metodo ordinario, cioè tenute per $^1/_4$ d'ora in una soluzione alcalina all'1 °/₀ di Na^2CO^3, si ha risultato negativo.

Culture su pappa di patate. — Negative.

Culture su pappa di patate alcalinizzata (1 °/₀ di Na^2CO^3). — Risultato negativo.

Culture in latte. — Nessuna modificazione del mezzo nutritivo, nemmeno dopo 15 giorni. Lo stesso materiale d'innesto, proveniente da culture su gelatina salata, che appariva ancora leggermente fosforescente al fondo dei tubi dopo circa 36-40 ore, perde nelle 48 ore ogni proprietà luminosa.

Culture su siero di sangue liquido e coagulato. — Raccolto asetticamente del siero di sangue di coniglio, si è seminato con cultura recente in brodo salato. Dopo 4 giorni si nota intorbidamento del liquido, che aumenta notevolmente nei giorni successivi; dopo 8 giorni si ha un deposito abbastanza abbondante, di colore grigiastro sporco, al fondo, mentre il liquido si è fatto meno torbido. Non si è mai osservata nemmeno traccia di fosforescenza. Un passaggio fatto in quinta giornata da questo mezzo in brodo salato ha dato in meno di 24 ore sviluppo normale e bellissima fosforescenza verde, nei primi due giorni evidentemente molto più intensa di quello che non si fosse ottenuta nelle altre culture in brodo salato.

Culture su mezzi salati (20°-22°).

La proporzione di NaCl aggiunto ai varî mezzi è stata del 3 °/₀. Le patate furono tenute prima della cottura, alcune

per un quarto d'ora in una soluzione di NaCl al 3 %, altre per 30–45 minuti in una soluzione satura a freddo.

Culture a piatto in gelatina salata. — Nelle 24 ore, se il materiale d'innesto è piuttosto abbondante, non è apprezzabile a occhio nudo nessun sviluppo, mentre è già visibile all'oscuro una fosforescenza estesa a tutta la lastra. Se il materiale invece è scarso, tanto lo sviluppo quanto la fosforescenza non si notano prima di circa 36–40 ore. Le colonie sono puntiformi, di colore grigio–giallastro, trasparenti. Ingrandite a $\frac{60}{1}$ appaiono come dischi perfettamente rotondi, a margini netti e regolari, di colore giallognolo, a contenuto finamente granuloso, con una parte centrale più scura e una zona marginale sempre abbastanza stretta, più chiara. Talora abbiamo osservato invece la zona marginale alquanto più scura della parte centrale. La fosforescenza è tanto marcata, che permette di osservare in camera oscura al microscopio le colonie, che si mostrano come dischi luminosi di luce verde chiara, perfettamente rotonde e regolari.

Le colonie in seguito si estendono ma non molto, non raggiungendo il triplo del diametro visibile dopo 40 ore; il margine non rimane più perfettamente netto, ma alquanto irregolare per la presenza di una fine punteggiatura periferica. La fosforescenza si mantiene immutata per circa 15 giorni, per poi diminuire gradatamente, essendo però ancora apprezzabile anche dopo 1 mese e più.

In una delle prime culture su lastra che abbiamo fatto, ci fu dato di osservare in tutte le colonie che s'erano sviluppate, la formazione di piccole colonie secondarie attorno alla principale, in guisa da circondarla come un'atmosfera. Queste piccole colonie dopo una diecina di giorni si sono già in massima parte fuse colla colonia principale, dando così alla colonia stessa un aspetto moruliforme appena accennato. La gelatina che ci servì per queste culture era a titolo piuttosto basso di colla di pesce (10 %) e quindi colla temperatura del mese di maggio poco consistente. Lavorando in seguito con gelatina al 15 % non osservammo più questo fatto, che solo si

è ripetuto quando di nuovo abbiamo adoperato appositamente della gelatina al 10 °/₀ con una temperatura esterna di circa 20°. La spiegazione del fenomeno sarebbe quindi da cercarsi, secondo noi, nella minore consistenza del terreno nutritivo unita alla grande mobilità del microrganismo.

La gelatina non è menomamente modificata.

Come già era stato osservato dall' *Eijkman*, anche noi abbiamo potuto ripetutamente constatare il fatto che in corrispondenza di colonie di muffe sviluppatesi per inquinamenti accidentali nelle lastre, la fosforescenza si mantiene per un tempo molto più lungo e quivi ritorna anche se già era prima spenta, delimitando esattamente la forma delle colonie di muffe; per cui la superficie da esse occupata appare come una chiazza diffusamente luminosa con numerose punteggiature più splendenti, specialmente alla periferia delle colonie.

Culture per infissione in gelatina salata. — Dopo 18 ore buon sviluppo lungo tutto il canale d' infissione, a forma di piccoli granulini giallognoli ravvicinati fra loro, più staccati nella parte inferiore. La fosforescenza si estende per tutta la cultura, marcatissima alla superficie dove il principio del canale d'infissione è segnato da un punto brillante di colore verde smeraldo, mentre va a mano a mano perdendo della sua intensità a misura che si approfonda nel canale. L'aumento di sviluppo in seguito procede lentamente, e solo verso il 10°-12° giorno si osserva una patina superficiale leggermente rilevata, di forma tondeggiante, a contorno a volte regolare, a volte alquanto frastagliato, opaca, giallognola, asciutta, di diametro in generale poco superiore a 1 mm.

Nel frattempo la fosforescenza è andata aumentando in superficie durante i primi 4-5 giorni, restando poi immutata per intensità; nel canale invece è andata continuamente diminuendo, con leggiere oscillazioni, fino a scomparire nei 2 terzi inferiori.

Nelle culture vecchie di 1 mese e più, la patina superficiale è talora molto allargata, del diametro di 4-5 mm. circa, poco rilevata, a margine liscio o leggermente ondulato, con accenno di zonatura e a volte di solcatura radiale, di colorito

giallo Napoli. Talora rimane sempre poco estesa, giallognola, a superficie e a contorno irregolari, e risulta chiaramente costituita da piccole colonie confluenti. Lo sviluppo lungo l'infissione è diventato continuo a nastro e mostra un asse centrale, costituito dal primo sviluppo lungo il canale, e due espansioni laterali membraniformi, più o meno ondulate, a margini finissimamente dentellati che si estendono lungo tutta l'infissione. Spesso esiste anche una terza e quarta espansione, in generale poco marcata e non continua, nel piano perpendicolare alle due prime.

La fosforescenza è sempre visibile tanto in superficie quanto nel primo tratto del canale, di colore verde ma alquanto sbiadita. Dopo circa 2 mesi si può osservare ancora una leggiera fosforescenza limitata alla superficie.

Cultura per strisciamento in gelatina salata. — Dopo 18 ore sviluppo di tante piccole colonie puntiformi grigiastre trasparenti lungo tutto lo strisciamento. La fosforescenza, già avvertibile nella penombra, all'oscuro è di una bella luce verde smeraldo. Anche quì lo sviluppo va aumentando molto lentamente e dopo circa 1 mese si è formata una patina continua, poco estesa al di là della striscia d'innesto, pochissimo rilevata, a margini leggerissimamente sinuosi e dentellati, a superficie splendente, alquanto umida, di colore grigio-giallognolo. Questo colore in seguito si accentua verso il giallo Napoli, mentre la gelatina intorno assume un aspetto lattescente. La fosforescenza si mantiene oltre 4 mesi e mezzo, essendo però dopo questo periodo di tempo molto indebolita e ridotta il più delle volte alla parte inferiore dello strisciamento.

Fino dal principio dello sviluppo la cultura è tenacemente aderente al substrato nutritivo.

Culture in brodo salato.— Dopo 18 ore sviluppo assai marcato per intorbidamento omogeneo del brodo. La fosforescenza è assai intensa nella parte superiore della cultura per l'altezza di 1 cm. o poco più; alla superficie si ha un anello anche più luminoso di colore verde smeraldo; il limite fra la parte luminosa e la parte oscura è formato da una linea netta, orizzontale. Basta però la lieve agitazione che si produce nel li-

quido togliendo il tubo di cultura dal termostato, anche se questo viene fatto con precauzione, perchè la fosforescenza si estenda a quasi tutto il brodo. In queste condizioni, anche una leggerissima scossa impressa al tubetto rende intensamente luminoso tutto il mezzo nutritivo. La luce è tale che, avvicinando il tubetto al quadrante di un orologio, si può con sufficiente facilità leggere l'ora. Dopo 2 o 3 giorni, mantenendosi il liquido ancora torbido ma in grado minore, si avverte al fondo del tubetto un deposito biancastro che collo scuotimento si solleva facilmente distribuendosi uniformemente nel mezzo. La fosforescenza è già molto diminuita. Al 5° o 6° giorno il brodo è diventato limpido, ed esiste un abbondante deposito al fondo. La fosforescenza è scomparsa in capo a 10–11 giorni, si riaccende però dopo anche una leggiera agitazione del tubo, e la luminosità comincia ad apparire prima alla superficie del brodo, ed è molto intensa nel deposito. Può essere provocata con agitazione sempre più forte e prolungata, anche in culture di circa 2 mesi. A misura che la cultura invecchia, il deposito si fa più compatto, cosicchè collo scotimento s'innalza a spirale. Non si è mai osservata formazione di pellicole alla superficie del liquido.

In culture di 8 giorni, trattate col metodo classico per mettere in evidenza la reazione dell'indolo (aggiunta di H^2SO^4 e di K^2NO^2) si ottiene una leggiera colorazione rosea. In cultura di 2 giorni si ha invece appena un anello roseo. Il metodo del *Crisafulli* dette sempre resultati negativi.

Culture in agar per strisciamento. — In 18 ore sviluppo di una patina rigogliosa assai estesa ma poco sollevata, grigiastra trasparente, finissimamente punteggiata, umida, splendente. Acqua di condensazione limpida, con deposito biancastro piuttosto abbondante. Discreta fosforescenza verde su tutto lo strisciamento e nel deposito dell'acqua di condensazione; questa con lieve scotimento diventa tutta luminosa. La patina va poi facendosi più spessa e biancastra, alquanto più uniforme, coi margini ondulati e leggermente più opachi della parte centrale, mentre la fosforescenza diminuisce rapidamente, e scompare dopo 15-20 giorni. Anche

in questo mezzo la patina culturale è fortemente aderente al substrato.

Culture per infissione in agar salato. — In 18 ore buono sviluppo lungo l'innesto, a colonie piccolissime, rotonde, staccate, e già fino da ora si osserva per circa la metà del canale di infissione l'espansione nastriforme descritta nell'infissione in gelatina. In superficie si nota una patina sottilissima, finamente punteggiata, trasparente, relativamente estesa. La fosforescenza è viva, verde smeraldo alla superficie, minore, ma sempre bene accentuata, circa nella metà superiore del canale di innesto. Entro 48 ore la patina in superficie si è sensibilmente ispessita e fatta più biancastra, l'espansione nastriforme si è spinta più in basso, talora fino verso il fondo del tubetto. La fosforescenza si è estesa ed è aumentata nel canale; dopo però rapidamente diminuisce, cosicchè in 15 giorni si osserva solamente sulla patina superficiale, dove si conserva per oltre 1 mese e mezzo. Nel frattempo lo sviluppo in superficie si è esteso fino quasi alle pareti del tubo, facendosi più spesso splendente, leggermente zigrinato di colore giallognolo. Nelle culture molto vecchie la zigrinatura scompare e la superficie della patina diventa liscia, uniforme.

Culture su patate salate. — Risultato negativo.

Culture su pappa di patate salata (3 % di NaCl). — In seconda o terza giornata si comincia a vedere una leggerissima fosforescenza grigiastra, mentre lo sviluppo non è ancora apprezzabile. Dopo circa 7 giorni lo sviluppo apparisce leggerissimo sotto forma di piccole goccioline grigiastre splendenti. Cresce con molta lentezza e si estende assai, assumendo un colorito bruno umido splendente. La fosforescenza si fa abbastanza marcata, verdognola. Dopo circa 2 mesi occupa gran parte della superficie di cultura, sotto forma di una patina di colore bruno rossiccio, splendente umida, zigrinata, con fosforescenza a luce verde assai intensa ai margini.

Culture in latte salato. — Il mezzo non viene menomamente modificato nemmeno dopo 1 mese. In terza o quarta giornata lo scotimento del tubo provoca una leggiera fosforescenza sbiadita, biancastra, che si estende gradatamente dalla superficie

agli strati inferiori del liquido. Essa aumenta leggermente per qualche giorno, poi diminuisce assai rapidamente ed entro 15 giorni è scomparsa.

Culture in mezzi glicerinati (20°-22°).

Culture per strisciamento in agar glicerinato. — Nelle 24 ore buon sviluppo su tutto lo strisciamento a forma di finissimi puntolini grigiastri trasparenti. Fosforescenza verdastra sbiadita, che rapidamente scompare dopo 3-5 giorni. Acqua di condensazione torbida e leggermente luminosa. Lo sviluppo si mantiene minore che nelle culture su agar comune.

Culture per infissione in agar glicerinato. — Lo sviluppo è bene visibile dopo 24 ore, coi caratteri che ha in agar comune, ma alquanto minore. La fosforescenza limitata alla superficie scompare dopo 2-3 giorni. Talvolta si osserva lungo l'infissione qualche bolla di gas.

Culture per strisciamento su agar glicerinato salato.—Sviluppo simile a quello che si ha su agar glicerinato colla solita proporzione del $^1/_2$ % di sale, la fosforescenza però è più marcata. Tanto lo sviluppo quanto la fosforescenza sono tuttavia quì assai inferiori a quello che si osserva nell'agar salato 3 %.

Culture per infissione in agar glicerinato salato. — Caratteri simili allo sviluppo in agar glicerinato non salato, ma con sviluppo e fosforescenza più marcati. Cultura però più scarsa e meno luminosa che in agar semplice salato 3 %. Come fatto costante si ha la produzione nel mezzo di bolle di gas.

Culture per strisciamento su siero di sangue glicerinato. — In primo tempo sviluppo simile a quello ottenuto nelle culture su siero semplice; lo stesso dicasi per la fosforescenza. Dopo 4-5 giorni la patina si fa spessa, di un colorito bianco opaco, splendente, umida, non aderente al substrato nutritivo, di consistenza cremosa, abbastanza estesa al di là della striscia d'innesto. Acqua di condensazione torbida, con forte deposito bianco nel fondo. La fosforescenza si mantiene solamente nella parte alta, dove la cultura conserva fino a un certo punto i caratteri della cultura in agar.

Culture anaerobie (20°–22°).

In brodo salato contenente formiato sodico, e a cui l'ossigeno ambiente era stato sottratto mediante il pirogallato potassico, non si osserva altro che un deposito pulverulento, bianco. Anche dopo scuotimento non si ha nessuna fosforescenza. Si ha formazione di piccole bollicine di gas alla superficie.

Trapianti fatti da queste culture dopo 15 e 30 giorni, in brodo salato, hanno dato buono sviluppo e intensa fosforescenza.

Seminagioni fatte nell'interno di uova hanno sempre dato risultati negativi.

Potere patogeno.

Il nostro microrganismo, se patogeno, non poteva esserlo che per animali a sangue freddo, non resistendo esso alla temperatura di 37°. Lo inoculammo perciò nel peritoneo di rane (*Rana esculenta*) in dose di $^1/_2$ a 1 cmc. con risultato costantemente negativo. Lo stesso esito negativo avemmo da inoculazioni di qualche goccia di cultura in brodo salato nella cavità del corpo di grosse chiocciole mangerecce (*Helix pomatia*).

* * *

Fino ad oggi furono isolate 25 specie di microrganismi fosforescenti, che il *Beyerinck* riunisce in un unico genere da lui chiamato *Photobacterium*, e che è caratterizzato da una sola proprietà, quella di produrre luce. Sono comprese quindi in questo genere puramente fisiologico unilaterale, specie molto diverse fra loro e per i caratteri morfologici e per molte proprietà biologiche. Infatti, per quello che concerne la morfologia, appartengono ad esso forme a cocco, a bastoncino, a comma ed a spirale; così per le proprietà biologiche, alcuni di questi microrganismi sono dotati di motilità talora vivacissima, altri perfettamente immobili, alcuni fluidificanti, altri non fluidificanti la gelatina. La fosforescenza stessa varia per

le diverse specie non solo per intensità, ma anche per qualità; in generale la luce prodotta è più o meno verde, in alcuni può essere più bluastra o gialliccia, in altri bianca. È certo però che, oltre la fosforescenza, questi microrganismi posseggono altre proprietà comuni; così il cloruro di sodio ha una buona influenza sullo sviluppo ed è quasi assoluta necessità per la produzione della fosforescenza, per questo i pesci di mare e l'acqua marina stessa sono per la maggioranza ottimi mezzi culturali. La presenza di ossigeno è un requisito necessario per tutti, se non per lo sviluppo perchè non pochi sono anaerobî facoltativi, almeno per la fosforescenza; mentre la luce dimostra non avere nessuna influenza sullo sviluppo e la luminosità di questi esseri. In generale si sviluppano bene a temperature piuttosto basse, alcuni già a 0°, e hanno come temperatura massima di sviluppo gradi oscillanti da circa 28° a circa 38°. Tutti sono asporigeni, se non si tenga conto del microrganismo luminoso osservato dal *Dubois* e da lui chiamato *Bacterium Pelagia*, molto imperfettamente studiato e descritto, e del resto non più trovato da nessun altro osservatore. Nella grandissima maggioranza non sono dotati di potere fermentante e non producono indolo. Alcuni finalmente sono patogeni per animali a sangue freddo, ed alcuni anche per le cavie, provocando in esse un quadro morboso identico a quello dato dal vibrione del colera.

Fra tutte queste specie non ne abbiamo trovata nessuna che si potesse avvicinare al nostro microrganismo, ad eccezione del *Photobacterium javanense*, studiato dall'*Eijkman* al Laboratorio di Weltevreden (Batavia) e che l'autore isolò da pesci di mare portati sul mercato locale.

Per le molte assomiglianze che esistono fra questo microrganismo e il nostro, stimiamo opportuno dare nella seguente tabella una descrizione sommaria dei due batterî, osservando che la descrizione del *Photobacterium javanense* dell'*Eijkmann* è stata da noi ricavata dal lavoro originale dell'autore, nonchè dalla osservazione di una cultura di questo microrganismo ottenuta dal Laboratorio batteriologico del Dott. *Kràl*.

Microrganismo fosforescente dell'*Eijkmann*	Microrganismo fosforescente nostro
Morfologia (Fig. 2). — Microrganismi a bastoncini isolati, a estremità arrotondate alquanto ottuse, larghi da 0,8 a 1 μ, lunghi da due a quattro volte la larghezza. Alcuni sono così corti che si avvicinano alla forma di cocchi, altri sono molto più lunghi e risultano dalla unione di due o più bastoncini. Colorati col metodo di *Löffler*, presentano a un polo un ciglio unico estremamente sottile, ondeggiante, il quale supera varie volte in lunghezza il batterio. Nelle culture vecchie filamenti più lunghi immobili, e non sono rare forme di involuzione, con bastoncini fortemente rigonfiati.	*Morfologia.* (Fig. 1-3). — Microrganismi a bastoncini isolati, a estremità arrotondate, larghi da 1 a 1,75 μ, lunghi da 1,75 a 3 μ. Alcuni sono così corti che presentano assolutamente la forma di cocchi, altri leggermente ovali. Talora sono uniti a due, più raramente in filamenti di tre o al massimo di quattro individui. Colorati col metodo del *De-Rossi*, presentano un ciglio unico, impiantato ad un polo, spesso un po' lateralmente, e che supera 2 o 3 volte in lunghezza, il diametro longitudinale del microrganismo.
Motilità. — Molto mobili, con un movimento di progressione secondo linee sinuose, talvolta anche rotatorio, senza che perciò il bastoncino s'incurvi. Nelle culture più vecchie vi è sempre un gran numero di bacilli immobili.	*Motilità.* — Molto mobili, con movimento molto rapido in linea retta, e con movimento di rotazione sul proprio asse; talora fanno delle vere capriole. A volte si avanzano rapidamente verso un punto, e tornano addietro senza rivoltarsi. In tutte le culture si osservano pure molti individui immobili.
Sporificazione. — Assente.	*Sporificazione.* — Assente.
Colorazione. — Si colorano bene e uniformemente cogli ordinari colori d'anilina. Non resistono al metodo di *Gram*.	*Colorazione.* — Si colorano facilmente coi comuni colori d'anilina, col liquido di *Löffler*; però, specie nelle culture più vecchie, molti individui assumono il colore solo ai due poli lasciando una parte centrale incolora o poco colorata. Non resistono al metodo di *Gram* nè a quello del *Claudius*.
Sviluppo in rapporto all' ossigeno. — Anaerobio facoltativo. In vita anaerobia non si ha fosforescenza.	*Sviluppo in rapporto all' ossigeno.* — Idem.
Culture piatte in gelatina salata. — Colonie bianche nettamente delimitate, che arrivate alla superficie si estendono a forma di disco. A debole ingrandimento le colonie sono rotonde di aspetto granuloso. Le più grandi hanno il centro e il margine più scuro, mentre la parte interposta si presenta di colore giallo-bruno	*Culture piatte in gelatina salata.* — Colonie di colore grigio-giallastro trasparenti, nettamente limitate, a sviluppo molto lento, e che non assumono mai la forma di disco. A $\frac{60}{1}$ appaiono perfettamente rotonde a contenuto finamente granuloso, con un centro più oscuro, e una zona marginale

Microrganismo fosforescente dell'*Eijkmann*	Microrganismo fosforescente nostro
chiaro. In seguito si ha una tendenza alla formazione di colonie secondarie, le quali però si fondono parzialmente colla colonia principale, cosicchè l'insieme si presenta come una massa irregolare più o meno verrucosa. La gelatina non è fluidificata (1).	stretta più chiara; talvolta la zona marginale è più scura della parte centrale. La tendenza a formare colonie secondarie è stata da noi osservata talvolta, le colonie secondarie però erano piccolissime. La gelatina non è fluidificata.
Infissione in gelatina salata. — Si ha un moderato sviluppo in superficie, e uno sviluppo minore lungo tutta la profondità dell'infissione.	*Infissione in gelatina salata.* — Sviluppo molto lento in superficie, in profondità sviluppo discreto.
Culture in brodo salato. — Il brodo viene uniformemente intorbidato, in seguito si forma un sedimento nebuloso. Non si forma mai pellicola superficiale.	*Culture in brodo salato.* — Intorbidamento uniforme del brodo che si schiarisce dopo pochi giorni con formazione di sedimento biancastro. Assenza di pellicola.
Culture per strisciamento in agar salato. — Massa umida, molle, non tenace, semitrasparente, bianco-grigiastra, a superficie liscia e piana, senza nessun disegno caratteristico.	*Culture per strisciamento in agar salato.* — Patina grigiastra trasparente, umida, splendente, con punteggiature, coi margini ondulati alquanto più spessi e opachi, leggermente vischiosa e fortemente aderente al substrato.
Culture su pappa di patate salata (3 %). — Scarso sviluppo con debole fosforescenza.	*Culture su pappa di patate salata* (3 %).— Discreto sviluppo, fosforescenza sufficientemente marcata.
Produzione di gas. — Non si osserva produzione di gas nemmeno in substrati contenenti glicerina. Piccole bollicine di gas si sviluppano nei mezzi glicerinati, in vita anaerobia. Nessun odore.	*Produzione di gas.* — Si osserva anche in vita aerobia, però in modo incostante, anche in mezzi non glicerinati. Non odore.
Produzione d'indolo. — ?	*Produzione d'indolo.* — Leggerissima.
Fosforescenza. — Luce di colore verde-azzurro con molto bianco mescolato.	*Fosforescenza.* — Luce di colore verde smeraldo puro.
Temperàtura di sviluppo. — Da 10° a 38°; ottimo da 28° a 38°.	*Temperatura di sviluppo.* — Da 0° a 28°,5; ottimo da 15° a 27°.

Come si vede dalla tavola su riportata, le differenze fra i due microrganismi sono tali che appariva utile uno studio più approfondito del nostro.

(1) La cultura inviataci dal *Kràl* era però dotata di un leggiero potere fluidificante.

Influenza del NaCl.

Visto dalle precedenti culture l'influenza che il NaCl ha sulla produzione della fosforescenza e sullo sviluppo del nostro microrganismo, fatto comune del resto a tutti i batterî fotogeni fino ad oggi studiati, abbiamo voluto ricercare quale fosse per esso l'ottima percentuale.

Allo scopo di avere un mezzo costante nella sua composizione, e sul quale il nostro bacillo si sviluppasse bene senza dare fosforescenza, siamo ricorsi a culture in uovo; giacchè, come diremo in seguito, le principali soluzioni nutritive minerali fin'ora proposte, anche in parte modificate, ci hanno sempre dato risultati negativi.

Culture in albume d'uovo non coagulato. — L'albume fu raccolto sterilmente in matraccini di *Erlenmeyer*, e dopo seminato il nostro fosforescente, non si ebbe nessuna modificazione del mezzo nè fosforescenza. Anche passaggi, fatti dopo 8-10-15 giorni, da questo albume in comuni substrati nutritivi salati, non dettero nessuno sviluppo.

Culture in tuorlo d'uovo non coagulato. — Raccolto il tuorlo colle stesse precauzioni usate per l'albume e seminato col nostro microrganismo, non si apprezza nemmeno quì nessuna modificazione del substrato. Seminagioni però fatte da questo mezzo in terreni adatti, hanno dato in poche ore sviluppo e fosforescenza.

Culture su uovo assodato. — L'uovo fatto assodare per $^1/_4$ d'ora in acqua a 100°, dopo sgusciato in modo asettico e tagliato in due con un coltello sterilizzato, viene posto in adatte scatole di vetro sterilizzate, e sulla superficie di taglio viene fatto l'innesto.

In terza e quarta giornata si nota sul tratto d'innesto, tanto sull'albume quanto sul tuorlo, lo sviluppo di una patina di colore giallo-crema chiaro, pochissimo rilevata, poco estesa, a superficie leggermente granulosa, umida, splendente,

che risalta naturalmente molto meno sul giallo dell' uovo, per il suo colore. Questa patina aumenta piuttosto lentamente, dando entro 15 giorni delle chiazze sufficientemente estese. Non si osserva mai nemmeno traccia di fosforescenza, mentre un passaggio fatto da questo substrato nei comuni mezzi nutritivi salati dà molto rapidamente culture benissimo fosforescenti.

Era perciò naturale di ricorrere a questi mezzi coagulati, giacchè in queste condizioni il nostro microrganismo si sviluppava meglio. Fra i due il migliore, anche per ragioni di tecnica, era il tuorlo, poichè con questo si poteva ottenere facilmente una perfetta mescolanza del mezzo con l' acqua che teneva in soluzione il sale. Dobbiamo però fare osservare che il tuorlo diluito colla metà del suo volume d' acqua distillata sterilizzata, e quindi solidificato, non permette più lo sviluppo del microrganismo. Altrettanto si dica dell' albumina allungata con acqua e coagulata.

Per la confezione di questo mezzo speciale abbiamo sempre aggiunto al tuorlo d' uovo un volume uguale d' acqua. Quantità questa minima che poteva essere aggiunta, tenuto conto delle diverse solubilità dei sali che volevamo adoperare, in rapporto alla proporzione con cui essi dovevano entrare nella composizione del mezzo nutritivo. Il substrato così ottenuto era distribuito in tubi da saggio e solidificato a becco di flauto, tenendolo per 45 minuti a 1 ora in istufa a 80°.

Col tuorlo d' uovo preparato nel modo sopra riferito, furono fatti tubetti contenenti dall' 1 al 9 % di NaCl purissimo. Seminati con una cultura in brodo *Dunham-Koch* (1) furono passati nel termostato a 20°-22°.

Dopo 18 ore si ha nei tubi contenenti il 3 e il 2 % di

(1) In questo mezzo il microrganismo si sviluppa all' incirca come in brodo, dando però una fosforescenza leggerissima e molto transitoria, tanto che dentro tre giorni si può avere una cultura freschissima, ma nel tempo stesso perfettamente oscura, quale appunto a noi occorreva per lo studio della influenza dei sali sulla fosforescenza.

sale, ma anche, sebbene in grado alquanto minore, nei tubi coll' 1 %, uno sviluppo ben marcato, nastriforme, continuo, esteso per parecchi millimetri oltre la linea d'innesto, a superficie splendente, umida. Lo sviluppo è pure visibile ma assai minore nei tubi contenenti il 4 % di NaCl; non è visibile negli altri.

La fosforescenza si presenta nei tubi contenenti il 3 e il 2 % di sale d'un bel verde smeraldo, tanto da permettere con facilità la lettura non solo dell' orologio ma anche dello scritto comune. Questa fosforescenza è già visibile anche alla luce diffusa, purchè questa non sia troppo intensa. Tre di queste culture illuminano la camera oscura tanto da rendere visibili dopo un certo tempo anche oggetti assai distanti. Nei tubi coll' 1 e col 4 % la fosforescenza è molto minore e grigiastra. Nelle culture col 5 % di sale si osserva soltanto leggiera fosforescenza grigiastra sul fondo, talora limitata a qualche semplice punto.

In seconda giornata lo sviluppo è rigoglioso nei tubi col 3, 2, 1 e 4 % di sale, scarso nei tubi col 5 %, limitato a qualche colonia puntiforme nel fondo, sui tubi col 6 %, assente negli altri. La fosforescenza sempre intensissima verde smeraldo nei tubi col 3 e 2 %, leggerissimamente minore nei tubi col 4 %, anche più sbiadita nei tubi coll' 1 %, assai leggiera in quelli col 5 %, manca nei tubi col 6 %.

In terza giornata si hanno gli stessi fatti, con in più una leggiera fosforescenza a punti nei tubi col 6 %.

Il modo di comportarsi della fosforescenza in questo mezzo col 3 % di sale è riprodotto evidentemente dalla fig. 5.

Le osservazioni protratte per oltre una settimana non hanno fatto mai rilevare nessuna traccia nè di sviluppo nè di fosforescenza nelle culture col 7, 8, 9 % di sale [1].

Nei tubi che contengono l'ottima proporzione di sale, lo sviluppo dopo pochi giorni è molto rigoglioso e forma una patina di più di ½ cm. di larghezza con due zone marginali che ricordano l'aspetto di una tenia.

Da queste esperienze risulta come l'influenza del NaCl

[1] Fatto del resto già osservato con altri substrati.

sia alquanto diversa per quello che riguarda lo sviluppo o la fosforescenza. Mentre l'ottimo di percentuale per lo sviluppo oscilla fra l'1 e il 3 %, l'ottimo per la fosforescenza è invece fra il 2 e il 3 %. Un altro fatto osservato in questi mezzi è la diminuzione piuttosto rapida della fosforescenza, che comincia già dopo 4-5 giorni, quasi come se l'energica produzione di luce che si verifica nei primi giorni, favorita dall'ottimo substrato, esaurisse rapidamente questa potenzialità nel microrganismo. La fosforescenza in questo, come in tutti i substrati in cui il bacillo si sviluppa sotto forma di patina, diminuisce soprattutto nella parte centrale, restando per un tempo molto più lungo nei margini, i quali infine seguitano a mostrarsi ancor luminosi quando già la parte centrale è completamente oscura.

Influenza di altri sali.

Tutti gli autori che si sono occupati dei bacilli fosforescenti sono concordi (ad eccezione del *Nüesch*, la cui osservazione che data dal 1878 non è però ben provata) nell'ammettere l'origine marina di tali microrganismi.

Questa comune osservazione ci ha indotti a ricercare la influenza che sul nostro fosforescente potessero avere alcuni degli altri sali che entrano nella composizione dell'acqua di mare, nonchè altri che in qualche modo potevamo credere dotati del potere di favorire la fosforescenza. E prima di tutto abbiamo sperimentato sui sali formati dagli alogeni col Sodio e Potassio. Siccome il 3 % in peso di sale comune, cioè 1,18 di Na e 1,82 di Cl, era risultata l'ottima percentuale sia per lo sviluppo sia per la fosforescenza, abbiamo aggiunto di ognuno di questi sali quella quantità che, dati i loro diversi pesi molecolari, contenesse la stessa proporzione di base e di acido; riservandoci di studiare in un prossimo lavoro qu'a sia la percentuale ottima per questi diversi sali.

Cloruri, Bromuri, Joduri di Na e K. — In questa serie i esperienze abbiamo preparato il nostro terreno nutritivo

ciale con NaCl 3 %, NaBr 5,282 %, NaJ 7,70 %, KCl 3,82 %, KBr 6,10 %, KJ 8,51 %. Seminati questi mezzi sempre con medesime culture non fosforescenti in brodo *Dunham-Koch* e passati a 20°, già dopo 18 ore si ha uno sviluppo bellissimo e una bellissima fosforescenza, al solito nei tubi con NaCl, e di poco inferiore su quelli con NaBr, e ancora alquanto ma poco minore nelle culture con KCl e KBr. Non si ha nè sviluppo nè fosforescenza sui tubi con NaJ e KJ. La fosforescenza si comporta anche con questi sali come col NaCl, cioè si esaurisce abbastanza rapidamente, tanto che dopo 20 giorni è debolissima.

Nei tubi contenenti gli joduri non fu possibile osservare mai nè sviluppo, nè fosforescenza [1].

Cloruri, Bromuri, Joduri, di Li, Ca, Mg, Sr. — La quantità di sale aggiunta fu rispettivamente: LiCl 2.179 %, LiBr 4.461 %, LiJ 6.871 %; per i sali di Ca, Mg e Sr abbiamo usato la proporzione data dalla molecola intera per avere la quantità di base corrispondente alla quantità di Na contenuta nella soluzione al 3 % di NaCl, e per avere la stessa quantità dell'acido abbiamo fatto di questi sali soluzioni proporzionali alla metà del peso molecolare. Abbiamo quindi aggiunto di $CaCl^2$ 5.692 % (molec. intera) e 2.846 % (½ mol.); $CaBr^2$ 10.256 % e rispett. 5.128 %; CaJ^2 15.076 % e 7.538 %; $MgCl^2 + 6H^2O$ 10.410 % e 5.205 %; $MgBr^2$ 9.435 % e 4.7175 %; MgJ^2 14.256 % e 7.128 %; $SrCl^2 + 6H^2O$ 13.672 % e 6.836 %; $SrBr^2 + 6H^2O$ 18.235 % e 9.1175 %; $SrJ^2 + 6H^2O$ 23.056 % e risp. 11.528 %.

Nel mezzo contenente LiCl lo sviluppo è assai lento e scarso a forma di colonie staccate e visibile in generale in seconda giornata. La fosforescenza è naturalmente a punti staccati come lo sviluppo, ma intensissima e di un bel verde smeraldo. Il LiBr non permette che una leggerissima fosforescenza nel fondo, fosforescenza che già scompare in pochi giorni, senza che sia apprezzabile nessuno sviluppo o al più qualche scarsisa colonia puntiforme.

---

[1] Aggiungendo al tuorlo d'uovo una quantità minore di NaJ (3.85 %) tiene un leggiero sviluppo e una debole fosforescenza.

Coll' LiJ si ebbero sempre risultati negativi.

Nei tubi con $CaCl^2$ a molecola intera si ha scarso sviluppo a colonie staccate, molto ritardato, perchè si nota verso la 6ª-7ª giornata, e fosforescenza grigiastra, sbiadita, che apparisce in 2ª giornata, dapprima limitata all' acqua di condensazione, e verso il 6°-7° giorno un po' più estesa lungo lo strisciamento.

Nei tubi invece che contengono $CaCl^2$ nella proporzione data dalla $^1/_2$ molecola, si ha la fosforescenza sufficientemente marcata fino dal primo giorno, e così si mantiene; lo sviluppo è buono.

Nelle culture su tuorlo con $CaBr^2$ a molecola intera, si avverte nelle prime 20 ore, non però costantemente, una leggiera fosforescenza, limitata quasi esclusivamente all' acqua di condensazione e che si mantiene per pochi giorni; lo sviluppo è scarsissimo e solo al limite dell' acqua di condensazione. Tanto lo sviluppo quanto la fosforescenza sono sufficientemente maggiori nelle culture contenenti la proporzione della mezza molecola.

L' CaJ^2 non permette in queste proporzioni nè sviluppo, nè fosforescenza.

Rigoglioso sviluppo e bella fosforescenza verde già dopo 20 ore nelle culture con $MgCl^2$ tanto nella proporzione della molecola intera, quanto in quella della mezza molecola; la fosforescenza si mantiene, scemando però di intensità, oltre i 20 giorni, come nei tubi col 3 % di NaCl.

Le culture con $MgBr^2$ si comportano come quelle con $MgCl^2$, eccetto una lieve diminuzione nella intensità luminosa.

Come fatto caratteristico notato costantemente nelle culture con sali di magnesio, accenneremo al colore brunastro che assume la periferia della cultura per tutta l' estensione dello strisciamento.

Negative le culture con MgJ^2.

Sul tuorlo di uovo contenente $SrCl^2$ a molecola intera, fosforescenza si mantiene sempre esclusivamente nell' acq di condensazione, dove apparisce in grado leggiero in 2ª gi nata. Lo sviluppo è sempre molto scarso e anche dopo

giorni appena visibile; in questo momento la fosforescenza è molto ridotta e appena si apprezza.

La mezza molecola del $SrCl^2$ permette uno sviluppo che in capo a 12 giorni si mostra bello, rigoglioso. La fosforescenza, che apparisce già nelle prime 24 ore, e che si estende su tutto lo strisciamento, è di colore verde-grigiastro e di mediocre intensità. Dopo 12 giorni si apprezza appena.

Il $SrBr^2$, sia con molecola intera sia con mezza molecola, permette un leggerissimo sviluppo entro 12 giorni, ma non permette nessuna fosforescenza.

Le culture con $Sr\,J^2$ sono negative.

Solfati e fosfati. — Abbiamo sperimentato i solfati di sodio, potassio e magnesio e il fosfato bisodico. La quantità di sale aggiunta fu per il $Na^2SO^4 + 10H^2O$, 16,512 % e rispett. per la mezza molecola, 8.256 %; per il K^2SO^4, 8.923 % e rispett. 4.4615 %; per il $MgSO^4 + 7H^2O$, 12.615 %; per il $Na^2HPO^4 + 12H^2O$, 18.358 %.

L'aggiunta di Na^2SO^4 nelle due proporzioni permette uno sviluppo rigoglioso e una bellissima fosforescenza verde che s'avvicina molto a quella che si ottiene col 3 % di NaCl.

Il K^2SO^4 a mezza molecola permette sviluppo e fosforescenza come il Na^2SO^4; a molecola intera invece non permette mai la fosforescenza e solo con molto ritardo e non costantemente un leggerissimo sviluppo.

L'azione del $MgSO^4$ differisce da quella del Na^2SO^4 per una leggiera diminuzione dell'intensità luminosa e per l'abbastanza rapido esaurimento nella parte centrale della cultura, mentre i margini restano ancora brillanti. Anche qui si nota il colorito brunastro della zona periferica della patina.

Il Na^2HPO^4 permette uno sviluppo assai scarso, e una fosforescenza verdastra limitata all'acqua di condensazione o poco al disopra.

Non abbiamo potuto sperimentare l'azione del Na^2CO^3, perchè questo sale aggiunto al tuorlo d'uovo ne impedisce definitivamente la coagulazione.

Riassumendo queste esperienze:

Tutti i cloruri sperimentati permettono sviluppo e fosfo-

rescenza, dalla massima permessa dal NaCl a quella appena visibile del $SrCl^2$. La scala d'intensità luminosa è la seguente: NaCl, KCl, LiCl, $MgCl^2$, $CaCl^2$, $SrCl^2$. Lo sviluppo sta pure in questo rapporto, ad eccezione del LiCl, in cui si formano colonie staccate.

I bromuri permettono pure tutti lo sviluppo, eccetto talora il LiBr, dal più intenso sul NaBr a quello leggerissimo sul $SrBr^2$. La fosforescenza, inferiore a quella dei rispettivi cloruri, sta nella seguente scala: NaBr, KBr, $MgBr^2$, $CaBr^2$, LiBr; manca nel $SrBr^2$.

I solfati sperimentati dànno buono sviluppo e bella fosforescenza.

Contrariamente a quanto ci si poteva aspettare, il fosfato bisodico, almeno nelle proporzioni usate, si è mostrato poco favorevole all'uno e all'altra.

Culture su mezzi speciali.

Abbiamo pure creduto opportuno di coltivare il nostro bacillo anche sugli speciali substrati adoperati per questi microrganismi, onde determinare specialmente se esistessero altre differenze fra esso e quelli fin quì descritti.

Culture su pesci di mare freschi. — I pesci di mare, oltre essere l'ambiente da cui più comunemente sono stati isolati questi microrganismi, sono da tutti indicati come l'ottimo mezzo per la produzione della fosforescenza.

Abbiamo perciò adoperato delle triglie (*Mullus barbatus*), pesce che facilmente potevamo procurarci sul mercato locale. Le abbiamo preparate seguendo le indicazioni del *Fischer*, cioè le abbiamo messe in un matraccio sterilizzato e le abbiamo tenute per 20 minuti a 100° in stufa di *Koch*. Dopo raffreddate, le abbiamo innestate con cultura in brodo *Dunham-Koch* recente ma oscura.

In un tempo variabile da 1 a 2 giorni si vedono su superficie del pesce delle piccole macchie o delle piccole s scie debolmente fosforescenti; il liquido raccolto al fondo d

matraccio può a volte presentare una luminosità diffusa a luce grigio-biancastra. Queste parti fosforescenti aumentano sempre pochissimo in estensione e non confluiscono mai fra loro. La fosforescenza non ha un aumento continuo, ma subisce delle oscillazioni da giorno a giorno, potendo a volte apparire anche di un bel verde intenso. Dopo circa 10 giorni è ben visibile lo sviluppo sotto forma di una patina giallo-cremosa, simile a quella che si ha sull'albume d'uovo solidificato. La fosforescenza si mantiene finchè il pesce si disgrega per opera della putrefazione. In un pesce che si è mantenuto esente da putrefazione, la fosforescenza era ancora leggermente visibile dopo oltre 3 mesi, benchè il pesce fosse dopo tale tempo rinsecchito.

Sotto questo rapporto il nostro microrganismo si differenzia ancora da quello dell' *Eijkmann*, che così descrive lo sviluppo della fosforescenza sui pesci da cui isolò il suo bacillo: « Da principio si vede spesso solamente un semplice punto luminoso, il quale però entro alcune ore si estende su tutta la superficie. Tutto il pesce sembra allora avviluppato in una nebbia luminosa di color verde mare netto, la quale è abbastanza intensa da permettere di distinguere anche alla distanza di alcuni decimetri delle lettere, le lancette, le cifre di un orologio, ecc. » (1).

Culture su pesci di mare salati. — I pesci adoperati furono l'acciuga (*Engraulis encrasicholus*) e l'aringa (*Clupea harengus*) e furono preparati al solito tenendoli per 20 minuti a 100° in stufa di *Koch* in matracci sterilizzati.

Abbiamo sempre avuto risultati negativi. Anche su acciughe lavate bene, spaccate nel mezzo e cotte nell'identico modo, non si è ottenuto nessuno sviluppo.

Culture in brodo di aringa. — Questo mezzo è stato preparato bollendo in istufa di *Koch* per 1 ora un'aringa spezzettata in 500 cmc. di acqua comune. Il brodo così ottenuto presenta naturalmente reazione neutra.

---

(1) V. *Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlandsch-Indië*, vol. XXIII, . 4, 1892, pag. 485.

In esso il nostro microrganismo si sviluppa provocando in 2ª giornata un intorbidamento omogeneo del liquido e dando una fosforescenza sbiadita, grigiastra, che si comporta nel resto come nelle culture in brodo di carne salato al 3 %.

Culture in gelatina di aringa. — Al brodo preparato come sopra si è detto, è stato aggiunto il 10 % di colla di pesce, senza neutralizzare (formula del *Lehmann*). La reazione di questo mezzo è spiccatamente acida.

Nelle culture per strisciamento si avverte solo dopo 48 ore su tutta la linea d'innesto uno sviluppo leggiero e una debole fosforescenza, apprezzabile soltanto dopo un lungo soggiorno all'oscuro.

Anche dopo molto tempo lo sviluppo si mantiene sempre piuttosto scarso, dando una leggiera patina lungo l'innesto, costituita da finissime punteggiature in parte confluenti. La fosforescenza dopo 7-8 giorni è notevolmente aumentata, facilmente apprezzabile, di colorito verdognolo.

Nelle culture per infissione lo sviluppo si mostra dopo 48 ore e solo per la metà superiore del canale d'innesto; resta anche in seguito sempre molto scarso e, pur estendendosi fino al fondo dell'infissione, è sempre a granuli staccati; manca in superficie. Fosforescenza assente, eccetto nel punto d'ingresso del canale, dove si osserva solo a stento e dopo lungo soggiorno all'oscuro.

In questo mezzo è notevole più che altro il ritardo e la scarsità di sviluppo nei primi giorni.

Nella stessa gelatina di aringa del *Lehmann* neutralizzata con Na^2CO^3 abbiamo avuto, tanto nelle culture per strisciamento quanto in quelle per infissione, sviluppo e fosforescenza non differenti da quello che si ottiene nella gelatina di carne salata al 3 %.

Perciò la scarsezza e il ritardo di sviluppo e la minore fosforescenza che si hanno nella gelatina di aringa non neutralizzata debbono essere attribuiti alla reazione acida del mezzo.

Culture su carne cruda. — In questo mezzo non si rei visibile nè sviluppo nè fosforescenza. L'osservazione del re

non può essere protratta a lungo per il rapido insorgere della putrefazione. Un passaggio fatto dopo 5 giorni dal punto d'innesto, in gelatina salata per strisciamento, ha dato una bella fosforescenza. Il microrganismo quindi può, se non altro, rimanere in vita per qualche tempo in questo ambiente anche dopo che s'è iniziata la putrefazione.

Culture su carne cotta. — Fette sottili di carne furono tenute per 20 minuti a 100° in stufa di *Koch* dentro scatole del *Petri*. Anche in questo ambiente non si vede nulla. Passaggi fatti dopo 6-8 giorni, cioè quando la carne cominciava ad alterarsi, in gelatina salata, hanno dato sviluppo e fosforescenza marcati. In un tubo di gelatina, malgrado l'avvenuta fluidificazione rapida del mezzo per opera dei germi della putrefazione, la fosforescenza s'è mantenuta per oltre 2 mesi e mezzo.

Culture su prosciutto crudo. — Negative.

Culture su prosciutto cotto (20^m a 100°). — Negative.

Mezzi nutritivi minerali. — Abbiamo sperimentato sui liquidi del *Naegeli*, dell'*Utschinsky* completo e modificato escludendo la glicerina, del *Gessard* completo e modificato come segue:

Succinato d'ammonio. . . .	gr.	10
Fosfato bipotassico	»	5
Cloruro sodico	»	30
Acqua distillata	»	1000

I risultati furono per tutti negativi. Ciò concorda con l'osservazione fatta dal *Beyerinck* relativamente al *Photobacterium* dell'*Eijkman*, che cioè l'ammoniaca, l'acido nitrico, l'urea, l'asparagina non possono servire ad esso come sorgente di azoto e che questo può essergli fornito solo dai peptoni.

Acqua di mare. — Contrariamente al *Fischer* ed altri sperimentatori, cui riuscì di rendere luminosa l'acqua di mare anche in grandi masse con una quantità relativamente piccola di materiale fosforescente, a noi questo non è riuscito.

Aggiungendo a 250-300 cmc. di acqua di mare non sterilizzata alcuni cmc. di cultura recente in brodo salato lumi-

nosa, la fosforescenza già dopo 18 ore non era più apprezzabile benchè sul momento dell'innesto apparisse, sebbene leggiera

La stessa esperienza fatta con acqua di mare sterilizzata permise alla fosforescenza di mantenersi per due giorni, dopo i quali scomparve per ritornare dopo oltre una settimana, insieme con un leggiero inalbamento dell'acqua. Passati pochi altri giorni, la fosforescenza scompare definitivamente, ma il microrganismo si mantiene lungo tempo in vita e si moltiplica in tale ambiente, dando un deposito biancastro al fondo del matraccio.

Alcune gocce di cultura in brodo salato seminate in 6-8 cmc. di acqua di mare sterilizzata dànno subito al mezzo una fosforescenza che aumenta sensibilmente nelle prime 24 ore, poi rapidamente diminuisce e dopo circa 4-5 giorni è scomparsa.

Culture in gelatina salata e colorita con tornasole. — Nulla di notevole per ciò che concerne lo sviluppo e la fosforescenza. In terza giornata si è reso evidente nelle culture per strisciamento un leggiero arrossamento del mezzo intorno a tutto lo sviluppo; nelle culture per infissione l'arrossamento è visibile soltanto in alto dove lo sviluppo è più marcato. In seguito l'arrossamento si propaga anche agli strati più profondi. Nelle culture per scuotimento la modificazione di colore si apprezza in terza giornata, specialmente nello strato mediano della gelatina. Dopo pochi giorni il substrato apparisce nettamente distinto in tre strati: uno superficiale alto circa 1 cm. in cui il colorito si mantiene ancora leggermente bluastro; uno strato mediano che arriva fino a circa $^1/_2$ cm. dal fondo, di colore assolutamente rosso; e uno strato inferiore leggermente bluastro. Lo sviluppo che apparisce sotto forma di piccolissime coloniette rotonde, grigio-biancastre, è abbondantissimo nello strato superficiale e nel mediano, molto scarso invece nell'inferiore. Nello strato mediano si hanno inoltre numerosissime bolle di gas, grandi quanto un grano di miglio o poco più. In seguito si ha completa decolorazione nello strato di me[illegible] e un arrossamento leggiero nello strato superficiale e [illegible] marcato nello strato inferiore. La fosforescenza è limitata a [illegible] superficie, che si presenta convessa per la spinta del gas.

La decolorazione maggiore negli strati profondi della gelatina (la permanenza della colorazione al fondo del tubetto deve dipendere dalla scarsità di sviluppo) sta a dimostrare come il nostro microrganismo abbia un potere fermentativo specialmente in vita anaerobia. Fatto del resto che è dimostrato anche dalla presenza di bollicine di gas alla superficie del brodo in cultura anaerobia.

Culture su mezzi zuccherati. — Dopo pochi mesi dacchè si coltivava artificialmente, il nostro microrganismo ha mostrato la proprietà di produrre gas in quantità notevole anche nella comune gelatina di carne salata al 3 °/₀, e questa proprietà si è fatta da allora costante. Per saggiare quindi il potere fermentante di esso sui varî zuccheri, era necessario ricorrere ad un mezzo in cui non esplicasse questa sua attività. Un terreno adatto per questo scopo ci parve dovess'essere la gelatina proposta dall' *Abba* per l'esame batteriologico delle acque, nella quale invece della carne entra come componente l'estratto *Liebig* privo di zuccheri.

In questo mezzo infatti, modificato per la sola aggiunta del 2,5 °/₀ di sale, il nostro bacillo si sviluppa benissimo con bella fosforescenza, ma senza traccia di produzione di gas nè in culture per infissione nè in culture per scuotimento.

Ora, siccome l'aggiunta del 5 °/₀ di glucosio al terreno nutritivo aveva già mostrato una azione sfavorevole sopratutto sulla fosforescenza, così preparammo dei tubi di cultura contenenti ognuno l'1 °/₀ dei seguenti idrati di carbonio: saccarosio, glucosio, maltosio, lattosio e mannite. Tutti questi zuccheri non modificano l'andamento della cultura, nè per lo sviluppo, nè per la fosforescenza, così nelle culture per infissione come in quelle per scuotimento; ma nelle une e nell'altre si ha costantemente moderato sviluppo di gas nei tubi contenenti glucosio e maltosio. Fatto questo pure osservato con la gelatina di carne, cui si erano aggiunti questi due zuccheri, per la presenza dei quali lo sviluppo di gas era maggiore che non nei tubi contenenti gli altri mostratisi inerti.

Influenza della temperatura, dell'ossigeno e della luce.

Azione della temperatura sullo sviluppo. — A 37°, temperatura a cui si sviluppa benissimo la maggioranza dei microrganismi fosforescenti e in particolare il *Photobacterium javanense* dell'*Eijkmann*, il nostro bacillo non si sviluppa affatto, benchè abbiamo sperimentato questa temperatura su varî mezzi nutritivi. Non solo non si sviluppa, ma già dopo 17 ore, trapianti fatti da queste culture e le culture stesse portate a 20° rimangono perfettamente sterili.

Anche la temperatura di 30° è sfavorevole per il nostro microrganismo, non solo perchè non ne permette lo sviluppo, ma perchè in circa una settimana lo uccide, come ci è risultato da trapianti fatti e dal passaggio delle stesse culture di prova a temperatura di 20°. Trapianti fatti in epoche più recenti hanno dato culture in nulla differenti dalle normali.

Il limite massimo per lo sviluppo oscilla fra i 28°,5 e i 29°, osservandosi a queste temperature un certo ritardo, però non molto accentuato.

Al di sotto di 27°,5-28° lo sviluppo si ha rapidamente e l'ottima temperatura può essere compresa fra i 15° e i 27°,5.

Il nostro microrganismo si sviluppa ancora a 0°. Abbiamo fatto a questa temperatura culture piatte in gelatina salata, culture in brodo salato e per strisciamento in gelatina salata. Lo sviluppo è evidente dopo 7-9 giorni; nelle culture in piastra sono visibili già dopo 7 giorni al microscopio delle piccolissime colonie, che si apprezzano ad occhio nudo dopo circa 11 giorni. Lo sviluppo rimane sempre molto esiguo. Queste culture passate a 20° mostrano nelle prime 18 ore un notevole aumento di sviluppo.

La difficoltà d'ottenere temperature al di sotto di zero costanti per un periodo di tempo assai lungo, ci ha impedito di fare ricerche in questa direzione.

Azione della temperatura sulla fosforescenza. — L'ottima temperatura per la fosforescenza coincide coll'ottimo di sviluppo;

e si ha pure fosforescenza, benchè più sbiadita, quando si è verificato lo sviluppo, anche alla temperatura limite di 28°,5-29°. A 0° la fosforescenza ritarda di poco sullo sviluppo, rimanendo però sempre molto sbiadita. Queste culture portate a 20° riacquistano rapidamente la luminosità normale.

Culture bene fosforescenti portate a 37° diventano perfettamente oscure in ore 2 $^1/_2$-3, ma rimesse a 20° ritornano in altrettanto tempo leggermente fosforescenti, e dopo riacquistano l'intensità luminosa primitiva.

Anche a 30° la fosforescenza diminuisce rapidamente nelle prime 2 ore e mezzo e si mantiene poi costante per varî giorni.

Al di sotto di 0°, già a — 5° la luminosità è sensibilmente diminuita dopo 15^m e dopo 35-40^m è in parte assolutamente scomparsa.

A — 14°-15° si ha una enorme diminuzione della luminosità dopo 5^m e la quasi totale scomparsa dopo circa 15^m.

A — 19° la cultura è perfettamente oscura dopo pochi minuti.

Tutte queste culture riportate a 20° ritornano, in relazione al succedersi del disgelo, perfettamente luminose, anche quelle che erano state tenute per un quarto d'ora a — 19°-20°.

Azione dell'ossigeno sulla fosforescenza. — Questo gas è assolutamente necessario per la produzione della luminosità, il che è già dimostrato dall'assenza di fosforescenza nelle culture anaerobie, le quali diventano immediatamente luminose non appena si permette in esse l'accesso dell'aria; dalla luminosità maggiore che offrono le culture per strisciamento; come pure dalla fosforescenza limitata alla parte superiore nelle culture in brodo e per infissione. Questo bisogno d'ossigeno è dimostrato pure dal modo di comportarsi delle culture per scuotimento in gelatina salata, che a questo scopo abbiamo voluto fare, servendoci come materiale d'innesto delle solite culture in brodo *Dunham-Koch*. In esse la fosforescenza è limitata esclusivamente alla superficie, mentre lo sviluppo è rigoglioso in tutta la massa della gelatina, accompagnato da abbondante produzione di gas.

Coll'agitazione anche leggiera delle culture fresche in

brodo e alquanto più energica delle culture più vecchie, la luminosità si estende anche negli strati inferiori, con molta probabilità a cagione del diffondersi dell'ossigeno nella massa del liquido. Questa ipotesi, ammessa dalla generalità degli autori, è confermata anche dal fatto che facendo gorgogliare dell'idrogeno in una cultura in brodo oscura, previamente ricoperta da uno strato di olio, non si ha nessuna fosforescenza; mentre basta far gorgogliare dopo l'idrogeno una sola bolla d'aria espirata, per vedere accendersi la fosforescenza in tutto il tubo.

Azione della luce. — La luce diffusa non ha mostrato nessuna influenza nè sullo sviluppo nè sulla fosforescenza del nostro microrganismo.

Spettro.

La fosforescenza è stata studiata spettroscopicamente solo da cinque autori, e cioè dal *Beyerinck*, *Ludwig*, *Forster*, *Fischer* e *Eijkmann*, il primo per il suo *Photobacterium luminosum*, il secondo per il *Micrococcus Pflügeri*, il terzo per il *Bacterium phosphorescens* del *Fischer*, per il *Photobacterium Fischeri* (*Beyer.*) il quarto e per il *Photobacterium javanense* il quinto.

Il *Beyerinck* osservò uno spettro continuo fra le linee D e G di *Fraünhofer;* il *Ludwig* ottenne uno spettro continuo dalla linea *b* di *Fraünhofer* fino al violetto; il *Forster* vide uno spettro continuo da λ 0.50 a 0.43, che svaniva più rapidamente verso il rosso che verso il violetto; lo spettro osservato dal *Fischer* era continuo da D a G col massimo di intensità fra E e la metà di F e G; il microrganismo dell'*Eijkmann* finalmente dava uno spettro continuo che si estendeva dal giallo-verde fino al violetto con la maggiore intensità luminosa fra la linea E e il mezzo di F e G.

Per ottenere lo spettro del nostro microrganismo abbiamo proceduto nel modo seguente: abbiamo preparato una cult in lastra su tuorlo d'uovo salato, facendo coll'ansa ripetuti s sciamenti paralleli. Ottenuto un buono sviluppo e una be

fosforescenza verde intensa, abbiamo esaminato uno dei punti più luminosi col microspettroscopio del *Praszmowski*.

Lo spettro continuo comincia nettamente in corrispondenza della linea D e si estende sfumando, poco al di là della linea F; comprende quindi il giallo e il verde.

Lo stesso spettro ottenemmo pure direttamente, senza l'ingrandimento dell'obbiettivo, servendoci di una cultura per strisciamento su tuorlo salato, e concentrando la luce con una forte lente piano-convessa sulla fessura laterale dell'apparecchio.

Accenneremo qui, riservandoci di entrare in particolari nel prossimo lavoro, che lo spettro ottenuto mediante lo spettrografo a dispersione del *Vogel* e fotografato con lastre ortocromatiche con una posa di 11 ore, ha dato un'immagine continua che comprende tutti i raggi, col massimo d'intensità nel giallo e verde. Il tratto di massima intensità è diviso da una striscia leggermente meno luminosa [1].

La presenza dei raggi rossi ci dà la spiegazione di un fatto già prima da noi osservato: culture su tuorlo salato e colorito con fucsina presentano una fosforescenza a luce nettamente azzurra turchese; e questo fatto deve appunto dipendere dalla riflessione dei raggi rossi, poichè lo stesso succede se si osserva una cultura fosforescente in luce rossa.

* * *

Le differenze esistenti fra il nostro microrganismo e quello dell'*Eijkmann* (*Photobacterium javanense*), l'unico che presenti tante assomiglianze col primo, da rendere necessario per la differenziazione uno studio comparativo quale noi abbiamo fatto, sono tali da autorizzarci a considerare il nostro bacillo come appartenente ad una specie nuova.

Principali fra tutte, la differenza nelle dimensioni dei due microrganismi, e la differenza che si ha nella temperatura di sviluppo, poichè mentre quello dell'*Eijkmann* presenta come li-

[1] La fotografia dello spettro ci fu gentilmente eseguita dall'Ing. A. Mari, cui rendiamo sentite grazie.

miti per lo sviluppo temperature da 10° a 38° con l'ottimo da 28° a 38°, i limiti per il nostro oscillano fra 0° e 28°5, avendo l'ottimo da 15° a 27°5. In questa idea ci confermano alcune altre proprietà del nostro microrganismo; quella per esempio che il mezzo da cui è stato isolato, ossia l'uovo rappresenta per esso l'ottimo substrato sia per lo sviluppo sia per la fosforescenza; mentre il *Photobacterium* dell'*Eijkmann*, isolato, come quasi tutti questi microrganismi, dai pesci, trova appunto in questo ambiente le condizioni ottime e per lo sviluppo e per la fosforescenza.

Si tratta quindi, secondo noi, di un microrganismo luminoso non ancora descritto, il quale per questa sua proprietà biologica appartiene al genere *Photobacterium* del *Beyerinck*, per cui proporremmo per esso il nome specifico di *Photobacterium italicum*. Se invece si voglia seguire la classificazione del *Migula*, secondo la quale il nostro microrganismo sarebbe una *Pseudomonas* per la presenza di un ciglio polare, esso potrebbe chiamarsi *Pseudomonas italica*, facendo così riscontro alla *Pseudomonas javanica* (*Eijkmann*) *Mig.*

Nel chiudere questo nostro lavoro, ci sentiamo in dovere di ringraziare vivamente il nostro Maestro, prof. *Roster*, per gli aiuti che ci ha dato e per le fotografie quì riprodotte che ci furono da lui gentilmente eseguite.

Firenze, aprile 1903.

Bibliografia.

1874. Ludwig F., Ueber die Phosphorescenz der Pilze und des Holzes. (Inaug. Dissert. Hildburghausen).

Pflüger, Die Phosphorescenz lebender Organismen und ihre Bedeutung für die Prinzipien der gesammten Respiration. (Archiv f. die ges. Physiologie, Bd. X).

1875. Pflüger, Ueber die Phosphorescenz verwesender Organismen. (Archiv f. die ges. Physiol., Bd. XI).

1878. Cohn F., Comunicazione epistolare a J. Penn, stampata nella « V zameling van stukken betreffende het geneeskundig staatstoez in Nederland », riportato dallo Schröter: Die Pilze in Krypto menflora von Schlesien, Bd. III.

1878. Nüesch J., Ueber das leuchtende Fleisch geschlachteter Thiere. (Cosmos, les Mondes, Revue hébdomadaire des sciences).

1879. Bancel et Husson, Sur la phosphorescence de la viande de hommard. (Comptes rendus hébdom. des séances de l'Acad. des sciences, tome LXXXVIII).

1880. Lassar O., Die Mikrokokken der Phosphorescenz. (Archiv f. die ges. Physiologie, Bd. XXI).

1884. Ludwig F., Micrococcus Pflügeri, der Urheber der Lichtfäule des Fleisches. (Hedwigia, n. 3. - Botan. Centralbl., XVIII, No. 11).

Ludwig F., Selbstleuchtende Pflanzen. (Zeitschrift f. Pilzfreunde, II. Jahr. 1. Heft).

Ludwig F., Ueber die spektroskopische Untersuchung photogener Pilze. (Zeitschrift f. wissensch. Mikrosk., Bd. I).

1885. Nüesch, Ueber leuchtende Bakterien. (Basilea, rifer. in Migula, System der Bakterien).

1887. Duclaux E, Sur les microbes phosphorescents. (Annales de l'Institut Pasteur, tome I, n. 10).

Fischer B., Bakteriologische Untersuchungen auf einer Reise nach Westindien. II. Ueber einen lichtentwickelnden im Meerwasser gefundenen Spaltpilz. (Zeitschrift für Hygiene, Bd. II).

Forster J., Ueber einige Eigenschaften leuchtender Bakterien. (Centralblatt für Bakt. u. Paras., Bd. II, No. 12).

Hermes, Demonstration des leuchtenden Nordsee-Bacillus. (Tagebl. d. 60. Versamml. Deutscher Naturf. und Aerzte in Wiesbaden).

Ludwig F., Die bisherigen Untersuchungen über photogene Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. u. Par., Bd. II, No. 13, 14).

Tilanus Jr., Onderzoekingen omtrent een lichtgevend microrganisme. (Weekbl. van het Nederl. Tijdschrift voor Geneesk. II).

1888. Dubois R., Sur le rôle de la symbiose chez certains animaux marins lumineux. (Comptes rendus hébd. de l'Académie des sciences, tome CVII).

Fischer B, Ueber einen neuen lichtentwickelnden Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. III, No. 4-5).

Fischer B., Bakterienwachsthum bei 0°C., sowie über das Photographiren von Culturen leuchtender Bakterien in ihrem eigenen Lichte. (Comunicazione alla Società di Fisiologia di Kiel, rifer. in Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. IV, No. 3).

1889. Beyerinck M. W., Les bactéries lumineuses dans leurs rapports avec l'oxygène. (Archives néerlandaises, tome XXIII).

Beyerinck M. W., Le photobacterium luminosum, bactérie lumineuse de la mer du Nord. (Archives néerlandaises, tome XXIII, rifer. in Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. VII).

Giard A., Sur l'infection phosphorescente des Talitres et autres Crustacés. — Parigi.

1889. GIARD A. et A. BILLET, Observations sur la maladie phosphorescente des Talitres et autres Crustacés. (Comptes rendus hébdom. des séances et mém. de la Société de Biologie, tome I).

LEHMANN K. B., Studien über das Bacterium phosphorescens Fischer. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. V, No. 24).

TOLLHAUSEN P., Untersuchungen über Bacterium phosphorescens Fischer. (Inaug. Dissert. Würzburg).

1890. BEYERINCK M. W., Over lichtvoedsel en plastisch voedsel van lichtbacteriën. (Mededeelingen der koninklijke Akademie van Wetenschappen, Afdeeling Natuurkunde, 2 Reeks, Deel VII, Amsterdam.

DUBOIS R., Nouvelles recherches sur la production de la lumière par les animaux et les végétaux. (Comptes rendus hébd. des séances de l'Acad. des sciences, tome CXI).

GADEAU DE KERVILLE H., Les végétaux et les animaux lumineux. — Paris, J. B. Baillière et fils.

GIARD A., Nouvelles recherches sur les bactéries lumineuses pathogènes. (Comptes rendus hébd. des séances de la Société de Biologie, tome II).

1891. BILLET, Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des Bactériacées. (Bull. scient. de la France et de la Belgique, tome XXI).

HEYNE, Leuchtendes Schweinefleisch. (Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Thierheilkunde, Bd. XVII).

KATZ O., Zur Kenntniss der Leuchtbakterien. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. IX).

LUDWIG F., Ueber die Phosphorescenz von Gryllotalpa vulgaris. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. IX).

1892. EIJKMANN C., Lichtgevende Bacteriën. Jaarverslag van het Laboratorium voor pathologische Anatomie en Bacteriologie te Weltevreden over het jaar 1891. (Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlandsch-Indië. Deel XXXII, Aflevering 4, Batavia).

FORSTER, Ueber die Entwickelung von Bakterien bei niederer Temperatur. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. XII).

RUSSEL H. L., Impfungsversuche mit Giard's pathogenem Leuchtbacillus. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. XI).

1893. KUTSCHER, Ein Beitrag zur Kenntniss der den Choleravibrionen ähnlichen Wasserbakterien. (Deutsche medizin. Wochenschrift, No. 49).

1894. FISCHER B., Die Bakterien des Meeres nach den Untersuchungen der Planktonexpedition. — Lipsius und Tischer, Kiel.

1895. KUTSCHER, Zur Phosphorescenz der Elbvibrionen. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. XVIII, No. 14-15).

WELEMINSKY F, Die Ursachen des Leuchtens bei Choleravibrionen. (Prager medizin. Wochenschrift, No. 25).

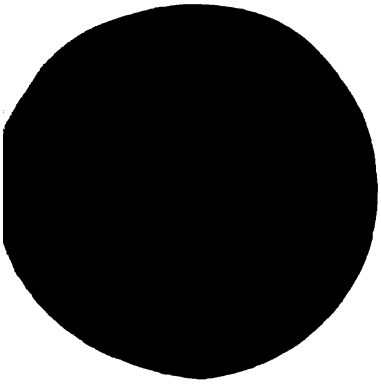


Fig. 1

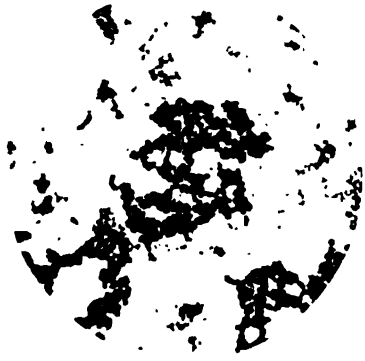


Fig. 2

Fig. 3

Fig. 5

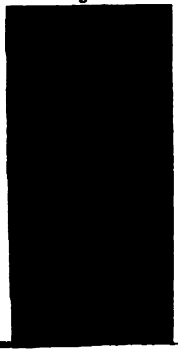
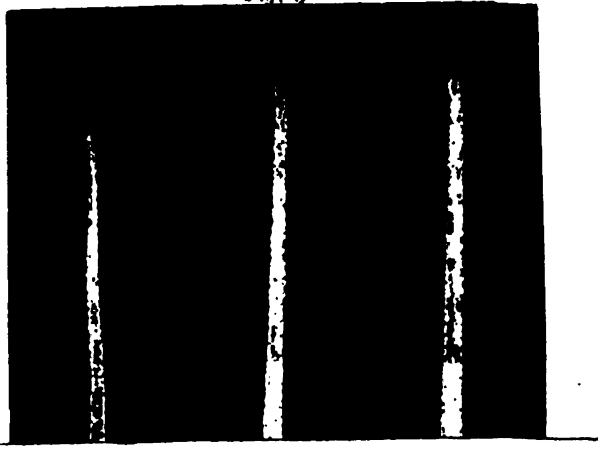


Fig. 4



1896 Kitt Th., Die Photobakterien und das Leuchten des Fleisches. (Monatsheft f. prakt. Thierheilk., Bd. 7).
1897. Katz O., Preliminary remarks on phosphorescent Bacteria. (Proceedings of the Linnean Soc. of New South Wales, Ser. II, Vol. II, Part. II e IV).
1898. Schmidt H. R., Leuchtendes Fleisch. (Wochenschr. f. Thierheilkunde).
1899. Henneberg W., Leuchtbakterien als Krankheitserreger bei Schwammmücken. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Bd. XXV, No. 18-19).
1900. Tchougaeff L., Recherches physiologiques sur les microbes phosphorescents. (Archives russes de pathologie, de médec. clinique et de bactériologie).
1901. Chicote C., Bacterias luminosas de la carne. (Boletin del Laboratorio municipal de Madrid, n. 1).

Spiegazione delle figure.

Figura 1. — *Photobacterium italicum* (*nobis*): da cultura in agar per strisciamento di 24 ore, colorito con fucsina carbolica diluita. Ingrand. $\frac{1030}{1}$. Imm. omog. 2 mm. *Zeiss*, Oc. proiez. 4; lunghezza della camera 50 cm.

Figura 2. — *Photobacterium javanense (Eijkmann)*: da cultura in agar c. s., colorito c. s. Ingrand. $\frac{1030}{1}$. Id.

Figura 3. — *Photobacterium italicum*: da cultura c. s., colorazione delle ciglia secondo *De-Rossi*. Ingrand. $\frac{1030}{1}$. Id.

Figura 4. — *Photobacterium italicum*: cultura per strisciamento su gelatina salata 3 %, di 48 ore, fotografata all' oscuro con posa di mezz'ora. Grandezza naturale.

Figura 5. — *Photobacterium italicum*: cultura per strisciamento su tuorlo d' uovo salato 3 %, fotografata all' oscuro con posa di 1 ora: *a*, cultura di 42 ore; *b*, la stessa di 66 ore; *c*, la stessa di 90 ore. Grandezza naturale. (I piccoli punti neri, che si vedono sulla cultura, sono dovuti alle finissime goccioline d' acqua di condensazione che si trovavano depositate sulla parete anteriore del tubo).

Istituto Farmacologico della R. Università di Sassari,
diretto dal Prof. **Giusto Coronedi**.

RICERCHE

INTORNO ALL'AZIONE FISIOLOGICA DELLA QUEBRACAMINA.

DOTT. RICCARDO LUZZATTO.
Assistente.

Per consiglio del prof. *Coronedi* ho continuato le sue ricerche farmacologiche sugli alcaloidi del quebraco bianco.

In questa nota riferisco quanto spetta alla quebracamina riservandomi di proseguire i miei studî su altri alcaloidi della stessa pianta, non ancora sufficientemente studiati. Le ricerche farmacologiche e cliniche fatte fino ad oggi, si riferiscono specialmente alla droga intiera ed a qualcuno degli alcaloidi, ma lo studio in proposito non si può dire certamente esaurito, e non esiste ancora tra i farmacologi un accordo completo sul meccanismo d'azione di tale droga e dei suoi principî attivi e sul suo valore terapeutico. Tralascio di riferire la storia dell'argomento perchè già riportata dal prof. *Coronedi* in un suo lavoro pubblicato nel 1899 (1).

Le ricerche furono fatte con solfato di quebracamina purissimo (fabbrica T. Schuchardt di Görlitz) che si presenta sotto forma di una polvere bianca, microcristallina, facilmente solubile nell'acqua cui imparte un sapore amarissimo.

In questo studio preliminare mi sono occupato di esaminare l'azione generale della detta sostanza sugli animali a sangue freddo e caldo, sull'apparato circolatorio negli stessi animali e sulla respirazione soltanto negli ultimi.

a) — Ricerche sull' azione generale della quebracamina negli animali a sangue freddo e caldo.

I fenomeni che si presentano in seguito all'avvelenamento per solfato di quebracamina negli animali a sangue freddo differiscono assai poco da quelli degli animali a sangue caldo; ma nei primi, la tolleranza verso il veleno, rimanendo pari tutte le condizioni sperimentali, è molto superiore che per i secondi.

Nelle rane (*rana esculenta*), nel rospo (*bufo viridis* e *bufo vulgaris*) e nel discoglosso (*discoglossus pictus*) per l'iniezione sotto la cute del dorso di qualche milligrammo di solfato di quebracamina, non si presenta assolutamente alcun fenomeno apprezzabile, ma se si aumenta la dose del veleno, allora uno dei primi fenomeni osservati è la diminuzione di eccitabilità diretta dei muscoli, che reagiscono meno prontamente e più debolmente alla stimolazione con corrente elettrica indotta.

Per ottenere questo fenomeno è necessario ricorrere a dosi discrete. Così in una rana del peso di gr. 48 è necessario iniettare gr. 0,005 del veleno, equivalenti a circa gr. 0.10 per kg. di peso corporeo. Questi fatti sono tuttavia transitorî e se si sospendono le iniezioni, l'animale si rimette completamente in breve tempo.

Se al contrario si aumenta la dose, diminuisce a poco a poco anche la eccitabilità indiretta dei muscoli, per cui per ottenere una contrazione conviene ricorrere a correnti indotte di maggiore intensità.

Contemporaneamente scompaiono i movimenti volontarî ed i riflessi superficiali e profondi ed entra in campo la risoluzione muscolare. I movimenti respiratorî intanto si fanno più superficiali, la loro frequenza diminuisce, anzi vi sono dei periodi in cui detti movimenti rimangono completamente sospesi per parecchi secondi A questo periodo segue uno stadio in cui l'animale compie rapidamente cinque o sei movimenti respira-

torî superficialissimi, indi la respirazione si arresta nuovamente.

Ha luogo quindi un ritmo periodico. Prima di morire l'animale presenta contrazioni cloniche, tuttavia leggiere, specialmente a carico degli arti posteriori e quasi in forma accessionale. Negli intervalli tra un accesso e l'altro, esiste completa risoluzione muscolare. Alle volte l'animale può ancora rimettersi e dopo alcune ore si presenta del tutto ristabilito, ma in generale i descritti fenomeni precedono la morte apparente.

Tuttavia spesso all'autopsia, praticata s'intende senza indugio, si trova il cuore ancora pulsante.

Finisce poi coll'arrestarsi talora in diastole ed altre volte in sistole. Il sangue è intensamente rosso.

Ma per ottenere il quadro descritto, bisogna ricorrere a dosi che, relativamente al peso dell'animale, sono invero grandissime se le paragoniamo con quelle necessarie a produrre la morte in un animale a sangue caldo, come già in parte ho fatto rilevare.

Così mentre per uccidere una rana del peso di gr. 40 occorrono 2-3 centigr. per via ipodermica (*equivalenti circa a 50-75 centigr. per kg. di peso corporeo*), per uccidere un cane del peso di kg. 5, bastano soltanto 12–14 centigr. somministrati per via endovenosa e 16–18 per via ipodermica (*equivalenti circa a 3 centigr. per kg. di peso corporeo*). I fenomeni che presenta il cane, per l'iniezione ipodermica o endovenosa di solfato di quebracamina, differiscono un po' a seconda della dose che si adopera. Se si iniettano per via ipodermica centigr. 0,5 per kg. di peso corporeo, dopo poco tempo l'animale presenta dei tremori che stanno a carico specialmente del treno posteriore; inoltre sembra leggiermente dispnoico ed emette di tratto in tratto delle grida. Tali tremori durano di solito 8-10 ore e vanno man mano decrescendo, finchè l'animale si rimette completamente. L'appetito è conservato. Usando 1 centigr. per kg. di peso corporeo, i tremori divengono più accentuati e così pure dispnea. Aumentando ancora la dose, si può ottenere la mor dell'animale che presenta allora gravissimi disturbi respirat

e convulsioni tonico-cloniche. Tuttavia non ostante questo quadro, i movimenti volontari e riflessi non scompaiono che negli stadî molto avanzati dell'avvelenamento.

La quebracamina però si mostra certo meno tossica di un altro alcaloide estratto pure dal quebraco, cioè della quebrachina (cloruro, fabbrica Schuchardt, Görlitz) che, come fu osservato fra gli altri dal *Coronedi*, e come ho potuto vedere io stesso, determina la morte in dosi minori più rapidamente, e dà luogo a contrazioni muscolari tonico-cloniche così forti, da ricordare il quadro dell'avvelenamento per stricnina.

Riguardo poi al fatto della molto maggior tolleranza del prodotto da me studiato (quebracamina) negli animali a sangue freddo, potremo comprenderne meglio la ragione quando avremo esaminato l'azione della quebracamina sulla respirazione.

b) — Ricerche intorno all' azione della quebracamina sul cuore negli animali a sangue freddo.

In queste ricerche ho proceduto prima di tutto coll' esame del cuore messo allo scoperto, quindi col metodo grafico, adoperando il cardiografo di *Marey* ed esperimentando col cuore sospeso alla maniera di *Engelmann* ed infine servendomi dell' apparato di *Williams* (*). Gli animali di esperimento furono la rana, il rospo ed il discoglosso.

Col metodo di sospensione dell'*Engelmann*, tenendo il cuore in buone condizioni di umidità (camera umida) e bagnandolo ogni tanto con soluzione al 0,75 °/₀ di cloruro sodico, si può seguire il decorso dell' esperienza anche per molte ore di seguito.

Se si fa cadere su questo cuore qualche goccia di una so-

(*) Per quanto riguarda la tecnica cf. fra gli altri i seguenti lavori: E .EMONT, *Ueber die Innervation des Herzens*. (Arch. f. exper. Pathol. u. P rmac., Bd. 46. 1901). — STRAUB, *Ueber die Wirkung des Antiarins am* a *eschnittenen, suspendirten Froschherzen*. (Arch. f. exper. Path. u. Pharm ., Bd. 45, 1900). — STRAUB, *Ueber die Wirkung der Kohlensäure am ausge*- *ittenen suspendirten Froschherzen*. (Ibid. Bd. 45, 1900).

luzione di solfato di quebracamina all' 1 °/₀, allora si presentano dopo pochi secondi delle notevoli modificazioni nel tracciato, consistenti specialmente in un aumento dell' ampiezza dell' escursione cardiaca ed in una rarefazione dei movimenti del cuore. Tali fenomeni si possono seguire molto meglio adoperando il cardiografo di *Marey* applicato al cuore in sito o l' apparecchio di *Williams* col cuore staccato.

Per chiarezza riporto le seguenti esperienze fra le tante che ho eseguito e che rispetto ai risultati sono assolutamente concordi.

Esperienza I. — *Bufo viridis*, del peso di gr. 48, in ottime condizioni; curarizzato. Messo allo scoperto il cuore, si applica la pinza cardiaca del *Marey*.

Figura I.

Il tracciato cardiaco normale è perfettamente regolare (vedi fig. I). L'altezza delle escursioni cardiache è di centimetri 1. La frequenza delle escursioni cardiache in 1' è di 92. Iniettando sotto la cute del dorso milligr. 3 di solfato di quebracamina sciolti in cc. 1 di soluzione fisiologica di cloruro di sodio, si osserva dopo qualche minuto una rarefazione

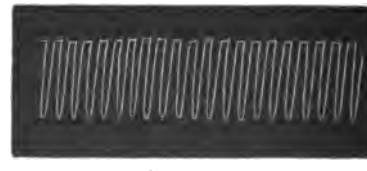


Figura II.

delle pulsazioni (vedi fig. II). Infatti la loro frequenza in 1' è di 80, mentre la loro altezza e la loro forma non viene mutata. Se allora si sospendono le iniezioni, persiste per qualche tempo (¼ d'ora circa) la rarefazione, ma poi il tracciato riprende il tipo normale. Se al contrario si continuano le iniezioni della stessa dose, ovvero fin da principio si impiegano dosi più alte (1 centigrammo o più) allora la rarefazione si viene ancora più notevole ed aumenta contemporaneamente, sebbene il

poco, l'altezza delle escursioni (vedi fig. III). La frequenza in 1′ è allora di 56. Continuando l'avvelenamento, il fenomeno si accentua assai

FIGURA III.

poco. Ben presto invece l'altezza dell'escursione incomincia a diminuire un po'. Tuttavia il cuore continua a pulsare un po' lentamente, ma regolarmente e con sufficiente energia; la forma del tracciato presenta pure qualche modificazione (vedi fig. IV).

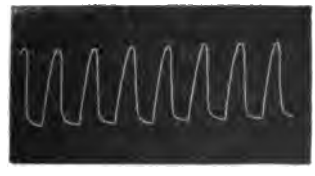


FIGURA IV.

La linea del tracciato non diviene mai orizzontale, o per lo meno ciò accade solo parecchio tempo dopo la morte apparente dell'animale, ma l'arresto del cuore prima della cessazione delle altre funzioni non si osserva mai.

Fenomeni simili si ottengono esperimentando col cuore fuori di sito e producendo una circolazione artificiale mediante l'apparecchio di *Williams*.

Le soluzioni nutritive adoperate a questo scopo furono o il sangue (defibrinato e diluito) di porco o la soluzione isotonica ed isoviscosa di Albanese. Riporto un' esperienza che ppresenta il tipo delle molte eseguite.

Esperienza II. — Si asporta con le dovute regole un cuore di *Bufo ridis* (del peso di gr. 44) in ottime condizioni e si applica all'apparecchio

di *Williams*. L'altezza dell'escursione cardiaca durante la circolazione di sangue normale è di cent. 1 e la frequenza in 1' è di 32 (vedi fig. V).

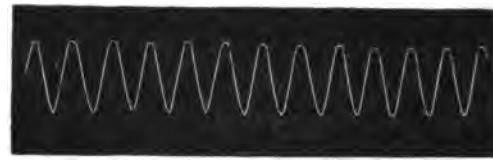


FIGURA V.

Si fa allora circolare la soluzione nutritiva avvelenata col 2 % di solfato di quebracamina.

Dopo qualche minuto, l'altezza delle escursioni cardiache aumenta fino a cent. 1,5 e la frequenza scende a 24 circa per 1' (vedi fig. VI).

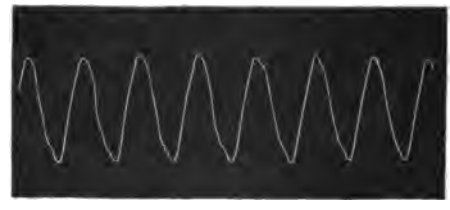


FIGURA VI.

Facendo circolare di nuovo la soluzione nutritiva normale, dopo pochi minuti l'escursione acquista i caratteri iniziali, mentre si ripete il fenomeno facendo giungere di nuovo al cuore il sangue avvelenato. Cionondimeno il cuore, anche prolungando la circolazione col liquido avvelenato, continua a pulsare per molto tempo, senza che si arrivi ad ottenerne l'arresto.

Ed anche aumentando la concentrazione (fino al 5 %) della soluzione rispetto al veleno, il quadro dei fenomeni non cambia che di poco. La rarefazione aumenta però in modo ancora più notevole di quanto fu descritto, fino a scendere a 15 pulsazioni per 1' e l'altezza subisce pure una leggiera diminuzione.

Questi fenomeni si devono ad un'azione diretta della quebracamina sul muscolo cardiaco e non sull'apparato card-
inibitore. Infatti si verificano anche col cuore atropinizzat
reciprocamente non spariscono per effetto dell'atropina; p
cui possiamo ritenere che nella I^a fase dell'azione la dimin

zione della frequenza sia collegata coll'aumento di energia della contrazione del miocardio, mentre nella fase inoltrata, quando quest'ultima diminuisce progressivamente, la rarefazione stia del pari in rapporto col progressivo spegnersi dell'eccitabilità del miocardio stesso.

A questo punto faccio rilevare che, come ho già accennato, la quebracamina agisce ancora sui muscoli striati.

c) — Ricerche intorno all'azione della quebracamina sull'apparato circolatorio negli animali a sangue caldo.

Esperimentando sugli animali a sangue caldo, i risultati sono un po' differenti a seconda della dose che si adopera, ed a prima vista tali risultati sembrano in contraddizione con quelli ottenuti sul cuore negli animali a sangue freddo: ma, come vedremo, le differenze sono più apparenti che reali. Per chiarezza riporto alcune esperienze.

Osservazione I. — Cane del peso di kg. 6, in ottime condizioni di salute. Narcosi morfinica (gr. 0,01 per kg. di peso corporeo). Si preparano la giugulare esterna ed il vago di destra, la carotide esterna di sinistra ed il nervo crurale di destra. Si mette la carotide in rapporto con il manometro e si prende la grafica normale. Indi si iniettano nella giugulare destra, con le dovute regole, gr. 0,075 di solfato di quebracamina sciolti in 7,5 cc. di soluzione isotonica di cloruro di sodio.

L'animale presenta quasi immediatamente gravissimi disturbi a carico della funzione respiratoria e circolatoria ed inoltre tremori fortissimi a carico specialmente del treno posteriore. I risultati riguardanti l'azione della quebracamina sulla circolazione sono riassunti nella seguente tabella.

Tempo	Pressione media in mm. di Hg.	*Osservazioni*
ore 15	141,2	Escursioni cardiache ampie, regolari. Frequenza in 1',62. Oscillazioni respiratorie bene evidenti.
» 15,4'	67,5	Eccitazione moncone periferico vago cervicale.
» 15,7'	142	Escursioni cardiache ampie, regolari. Oscillazioni respiratorie evidenti. Iniezione endovenosa centigr. 7,5 di solfato quebracamina.
» 15,9'	138,4	Escursioni cardiache ampie, regolari. Frequenza in 1',62 Oscillazioni respiratorie evidenti. Incominciano forti tremori negli arti posteriori.
» 15,11'	99,6	Escursioni cardiache meno ampie e più frequenti. Frequenza in 1',66. Oscillazioni respiratorie pochissimo evidenti. Aumentano i tremori a carico degli arti. Respirazione molto irregolare. Inspirazioni prolungate.
» 15,18'	60	Eccitazione moncone periferico vago cervicale.
» 15,15'	90	Escursioni cardiache piccole. Oscillazioni respiratorie poco evidenti.
» 15,18'	45	Escursioni cardiache piccole. Frequenza in 1',62. Oscillazioni respiratorie non evidenti.
» 15,19'	30	L'animale dopo un breve periodo di dispnea, muore per arresto respiratorio.

Osservazione II. — Cane bastardo, robusto, del peso di kg. 5, in ottime condizioni di salute. Tecnica come nell'esperienza precedente. Narcosi morfinica (3,5 centigr. per via ipodermica). Si iniettano nella vena giugulare esterna in 4 volte, con 20 minuti di intervallo, centigr. 13 di solfato di quebracamina sciolti in altrettanti c.c. di soluzione isotonica di cloruro di sodio. L'animale sopporta assai bene le iniezioni, certo causa della somministrazione frazionata delle dosi.

Il decorso dell'esperienza e specialmente i risultati riguardanti modificazioni circolatorie, sono riassunti nella seguente tabella.

Quando si incomincia l'esperienza, l'animale è ancora profondamente narcotizzato, al che deve ascriversi il fatto che la pressione carotidea sia così bassa.

Tempo	Pressione media in mm. di Hg.	*Osservazioni*
ore 15	56	Escursioni cardiache abbastanza ampie e regolari. Oscillazioni respiratorie evidentissime. L'animale dorme tranquillamente. Frequenza escursioni cardiache in 1',66.
» 15,5'	56	Idem, idem. *Iniezione endovenosa di centigr. 3 di solfato quebracamina.*
» 15,6'	63,2	Escursioni cardiache abbastanza ampie e regolari. Frequenza in 1',66. Oscillazioni respiratorie evidenti.
» 15,7'	43,4	Escursioni cardiache più ampie. Frequenza in 1',62. Oscillazioni respiratorie pochissimo evidenti.
» 15,9'	37,3	Idem, idem.
» 15,12'	37,3	*Iniezione endovenosa di centigr. 4 di solfato quebracamina.*
» 15,13'	.....	Abbassamento notevolissimo della pressione che scende quasi a zero. Scomparsa delle escursioni cardiache e delle oscillazioni respiratorie. Tremori.
» 15,15'	28,6	Escursioni cardiache più ampie. Frequenza in 1',58. Oscillazioni respiratorie scomparse.
» 15,19'	30,90	Idem, idem. Forti tremori nel treno posteriore. Espirazione breve. Inspirazione lunga ed intercisa.
» 15,25'	59,2	Escursioni cardiache abbastanza ampie. Frequenza in 1',58 Oscillazioni respiratorie quasi assenti.
» 15,35'	65	Idem, idem. L'animale ha di tratto in tratto tremori.
» 15,50'	81,5	Idem, idem. *Iniezione endovenosa di centigr. 3 di solfato quebracamina.*
» 15,52'	84	Escursioni cardiache meno ampie. Frequenza in 1',52. Oscillazioni respiratorie quasi assenti.

Tempo	Pressione media in mm. di Hg.	*Osservazioni*
ore 15,59'	97,2	Escursioni cardiache meno ampie. Frequenza in 1'63. Oscillazioni respiratorie più evidenti. La respirazione ha i caratteri accennati prima. Tremori leggeri agli arti posteriori.
» 16,5'	97	Idem, idem.
» 16,7'	40	Eccitazione moncone periferico vago cervicale.
» 16,9'	70,2	Escursioni cardiache poco ampie. Frequenza in 1',66.
» 16,11'	87	Idem, idem. Oscillazioni respiratorie non molto evidenti. *Iniezione endovenosa di centigr. 3 di solfato quebracamina.*
» 16,14'	52	Escursioni cardiache più ampie. Frequenza in 1',56. Oscillazioni respiratorie non evidenti.
» 16,19	72,4	Escursioni cardiache meno ampie. Frequenza in 1',60. Oscillazioni respiratorie un po' più evidenti.
» 16,20	72,4	Idem, idem.
» 16,21	80	Eccitazione moncone centrale nervo crurale. Escursioni cardiache poco ampie. Frequenza in 1',64. Oscillazioni respiratorie poco evidenti.
» 16,31	80	Idem, idem.
» 16,41	80	Idem, idem.
» 16,41 ½	136	Eccitazione moncone centrale nervo crurale. Escursioni cardiache frequentissime, e irregolari, tanto che non si possono nemmeno contare. L'animale ha convulsioni e dispnea.
» 16,52''	100	Escursioni cardiache regolari, non molto ampie. Frequenza in 1',64. Oscillazioni respiratorie poco evidenti.
» 17,10	116	Idem, idem.

La pressione sanguigna anche dopo quasi tre ore dall'inizio dell'esperienza, si mantiene elevata. I movimenti respiratori sono molto

lenti; l'inspirazione prolungata ed intercisa. Si uccide l'animale per dissanguamento.

Le due riportate esperienze sono molto dimostrative e s'accordano proprio in modo completo con quanto aveva osservato il *Coronedi* studiando l'azione del quebraco bianco sulla pressione sanguigna.

Egli aveva infatti concluso che il quebraco bianco non è nello stretto senso della parola un veleno cardiaco. Ed io posso ripetere lo stesso riguardo alla quebracamina.

Già le esperienze fatte sugli animali a sangue freddo, dimostrano che non si arriva ad ottenere mai arresto iniziale del cuore, anche se le dosi adoperate sono molto notevoli, ma che anzi si ottiene per un certo periodo, un rinforzo delle contrazioni cardiache.

Possiamo descrivere il modo di comportarsi della pressione arteriosa negli animali a sangue caldo, con le stesse parole usate dal *Coronedi* rispetto al quebraco bianco. « La pressione arteriosa per effetto del quebraco, si comporta in modo differente a seconda delle dosi; se queste sono piccole, la pressione cresce benchè l'aumento sia di poco valore; se al contrario la dose somministrata in una sola volta è alta, la pressione si abbassa piuttosto notevolmente ed in modo progressivo; se poi la dose somministrata in una sola volta è media, l'abbassamento della pressione è discreto, ma fugace, la pressione tende a ritornare al livello primitivo e talora a superarlo ». Nella esperienza seconda, come si è visto dalla tabella riportata, ogni iniezione, tolta la prima, era seguita da abbassamento della pressione. Inoltre l'abbassamento si accompagnava a leggierissima rarefazione del polso e ad ampiezza un po' maggiore delle escursioni cardiache.

La quebracamina non agisce direttamente sul cuore o sul suo apparato nervoso nel produrre l'abbassamento della pressione, non solo perchè i risultati ottenuti negli animali a sangue freddo contraddicono ciò, ma ancora perchè la rarefazione del polso è piccolissima in confronto dell'abbassamento della pressione, mentre sarebbe molto notevole se i due fenomeni

fossero legati ad eccitazione del centro o dei nervi cardio-inibitori.

Quindi il meccanismo con il quale detto abbassamento di pressione si produce, deve essere diverso: ed io credo che ciò si deva all'azione energica vaso-dilatatrice già dimostrata dal *Coronedi* per la droga su gli organi staccati, azione che, come afferma questo autore, mentre è pronta a manifestarsi, altrettanto sollecita è a scomparire. E questi fatti quindi ci spiegano perfettamente perchè nella seconda esperienza ad ogni iniezione seguiva un abbassamento di pressione di durata breve; poco dopo infatti l'altezza della pressione ritornava al livello iniziale od anche lo superava.

In ogni modo mi riservo di verificare sperimentalmente se, anche riguardo alla quebracamina, questa sia, come credo realmente, la spiegazione del fatto.

Nell'esperienza prima, all'iniezione segue un abbassamento permanente e progressivo della pressione arteriosa; ma conviene ricordare che in questo caso fu iniettata in una sola volta una forte dose di veleno. Si ebbe così un abbassamento della pressione dovuto in parte a vaso-dilatazione, in parte all'azione nociva che, come ho già dimostrato, esercitano le forti dosi di quebracamina sul cuore ed in parte ai gravissimi disturbi respiratorî, che determinarono in breve tempo la morte dell'animale.

L'azione vasodilatatrice è, come dimostrò anche il *Coronedi* con gli organi staccati, di natura periferica e non centrale: proverebbe ciò anche il fatto che l'eccitabilità del centro vasocostrittore si mantiene del tutto inalterata anche in periodi inoltrati dell'avvelenamento. Difatti si ottiene sempre un notevole aumento nella pressione arteriosa per l'eccitazione, con corrente indotta, del moncone centrale del nervo crurale.

Fra gli altri caratteri che appaiono dall'esame dei tracciati o delle tabelle, dobbiamo osservare che il vago si mantiene sempre eccitabile. Per l'eccitazione del moncone periferico del vago cervicale, si ottenne sempre un notevole abbassamento della pressione arteriosa ed una forte rarefazione del polso e ciò si verificò anche negli stadî più inoltrati dell'avvelenamento.

Le oscillazioni della pressione coincidenti coi moti della respirazione poi vanno facendosi progressivamente meno evidenti fino a scomparire del tutto. Questo ultimo fatto va di pari passo coi disturbi della respirazione.

d) — Ricerche intorno all' azione della quebracamina sulla respirazione.

L'azione degli alcaloidi del quebraco sulla funzione respiratoria, è certo quella che ha attratto maggiormente l'attenzione dei farmacologi e per il fatto che il quebraco bianco ed i suoi alcaloidi ebbero un tempo applicazioni terapeutiche come antidispnoici, ed ancora perchè tale funzione si mostra più intensamente modificata o alterata delle altre per l'azione di questi alcaloidi.

Tuttavia, come vedremo in seguito, non tutti gli autori sono d'accordo nel descrivere i disturbi respiratorî conseguenti all'azione della droga e dei suoi alcaloidi e nell'interpretarne il meccanismo d'azione.

Descrivo intanto qualcuna delle esperienze da me fatte col solfato di quebracamina.

Esperienza I. — Cane bastardo, robusto, del peso di kg. 5, in ottime condizioni di salute. Narcosi morfinica (1 centigr. per kg. di peso corporeo per via ipodermica).

Fissato sul lettuccio l'animale si mette a nudo la vena giugulare esterna di destra per le iniezioni, si pratica la tracheotomia e si applica

Figura VII.

nella trachea una cannula a T che è in rapporto, mediante un tubo di gomma, con un tamburo di *Marey*, e si prende la grafica respiratoria normale la quale è perfettamente regolare (vedi fig. VII). La frequenza

dei movimenti respiratorî in 1′ è di 22. Indi si iniettano nella vena centigr. 7,5 di solfato di quebracamina (corrispondenti a centigr. 1,5 per kg. di peso corporeo) sciolti in 7,5 cc. di soluzione isotonica di cloruro di sodio. Subito dopo l'iniezione, l'animale presenta contrazioni tonico-cloniche ed arresto della respirazione, arresto che dura circa 15 secondi ed è seguito poi da un ritmo respiratorio assai irregolare (vedi fig. VIII).

Figura VIII.

La dispnea è allora molto notevole (58-60 respirazioni per 1′ da un numero iniziale di 22-24), ma l'ampiezza delle singole escursioni respiratorie è un po' diminuita. Questa dispnea così intensa non dura però molto tempo e dopo 10 minuti circa il ritmo si modifica assai.

Allora (come si vede dalla figura IX) l'espirazione è brevissima e si compie in un solo tratto; l'inspirazione al contrario è molto prolungata

Figura IX.

e si compie in più tempi. Si ha quindi, quasi un'inspirazione intercisa e numerosissime sono le curve che presenta perciò la linea inspiratoria. Allora il numero delle respirazioni per minuto è notevolmente diminuito (4-5 per minuto) ma è aumentata assai l'ampiezza delle escursioni. Se in questo tempo si osserva l'animale, si vede che il movimento toracico inspiratorio si compie in modo discontinuo.

Del resto anche questa fase non continua per molto tempo e ad essa ne succede una caratterizzata da frequenza un po' maggiore dei movimenti respiratorî, che s'accompagna ad un notevole abbassamento delle curve. Il cane presenta durante tutta l'esperienza contrazioni fibrillari nei muscoli degli arti posteriori. Dopo tre ore circa dall'inizio dell'esperienza, la eccitabilità del centro respiratorio è ancora più dimi-

nuita. Vi sono dei lunghi tratti di *apnea* interrotti da periodi durante i quali l'animale compie rapidamente 5-6 movimenti respiratori,

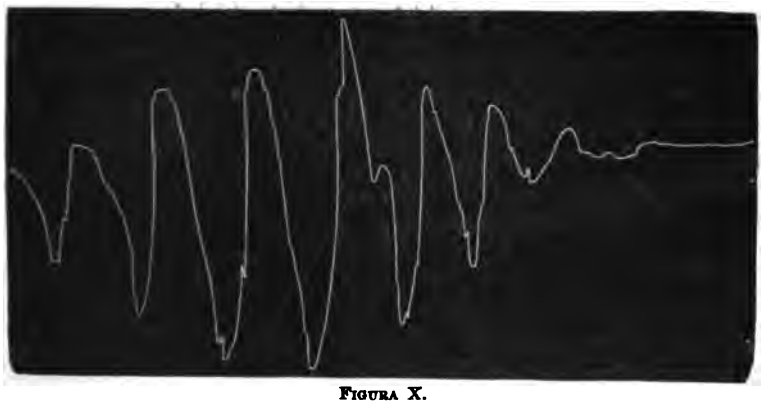


FIGURA X.

in modo che si stabilisce un tipico ritmo periodico di *Cheyne-Stokes*. (Vedi fig. X). I periodi di apnea vanno diventando sempre più lunghi e finalmente l'animale muore. All'autopsia, praticata subito dopo, il cuore si trova fermo in diastole.

Esperienza II. — Cane bastardo, robusto, del peso di kg. 4, in ottime condizioni di salute. Narcosi morfinica (1 centigr. per kg. di peso corporeo). Tecnica come nell'esperienza precedente. Iniezione endovenosa di centigr. 4 di solfato di quebracamina sciolti in 4 cent. cubici di soluzione isotonica di cloruro di sodio. L'animale è colto improvvisamente

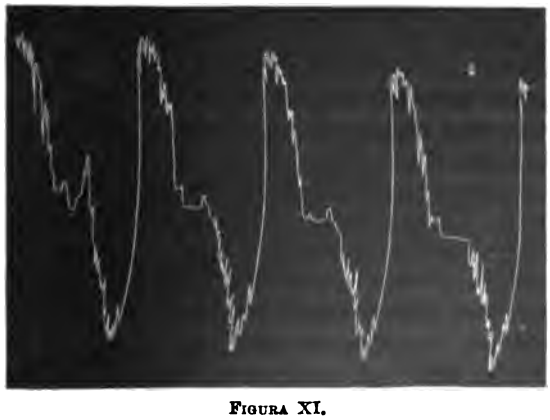


FIGURA XI.

da dispnea intensissima, tanto che non si possono contare quasi i movimenti respiratori segnati sul cilindro. Anche l'ampiezza dei movimenti

respiratori è aumentata notevolmente. Nello stesso tempo presenta contrazioni muscolari tonico-cloniche violentissime, ma che diminuiscono a poco a poco.

Persiste però per tutta la durata dell'esperienza un tremore nei muscoli degli arti e specialmente a carico del treno posteriore.

Il cuore pulsa con discreta energia, tuttavia un po' irregolarmente. La respirazione, sebbene più regolare, si conserva dispnoica per un tempo abbastanza lungo (circa mezz'ora) e viene seguita poi da una fase assolutamente analoga a quella descritta nella I^a^ esperienza. Si osserva cioè l'espirazione rapida e che si compie in un solo tempo, mentre l'inspirazione è assai lunga e si compie in molti tratti (vedi fig. XI). Per cui c'è notevole rallentamento dei movimenti respiratori. In questo animale tale fase dura per qualche ora di seguito e non c'è alcun accenno alla cessazione del respiro nè al ritmo periodico di *Cheyne-Stokes*.

Il cuore continua a pulsare abbastanza bene, tuttavia un po' irregolarmente.

Si uccide l'animale per dissanguamento.

FIGURA XII.

Tracciato del tempo in secondi, eguale in tutte le esperienze descritte.

Esperienza III. — Cane bastardo, robusto, del peso di kg. 6, in ottime condizioni di salute.

Narcosi morfinica (centigr. 0,5 per kg. di peso corporeo). Tecnica come nell'esperienza precedente. (Si pratica ancora però la fistola dell'uretere per studiare le modificazioni nella quantità di orina eliminata e le proprietà dell'orina).

Si iniettano per via endovenosa centigrammi 3 di solfato di quebracamina sciolti in centim. cubici 3 di soluzione isotonica di cloruro di sodio (centigr. 0,5 per kg. di peso corporeo). L'animale presenta subito forti irregolarità respiratorie caratterizzate specialmente da dispnea di frequenza e non di profondità; inoltre contrazioni tonico-cloniche a carico specialmente degli arti posteriori.

Ma poi a poco a poco la respirazione tende a farsi regolare e si dileguano a poco a poco anche gli altri fenomeni.

Si iniettano nella vena, a mezz'ora di distanza in due volte, ancora 5 centigr. di solfato di quebracamina sciolti pure in soluzione isotonica di cloruro di sodio. La respirazione dopo una fase di dispnea, assume nel

complesso i caratteri indicati nelle altre esperienze. L'espirazione è breve; l'inspirazione lunga, ma molto meno intercisa che nei casi precedenti.

Verso la fine dell'esperienza, l'altezza della curva respiratoria si abbassa notevolmente, pur conservando i caratteri ora indicati. Il cuore continua a pulsare con energia. Si uccide l'animale per dissanguamento.

* * *

Da queste tre esperienze che ho riportato appare che il solfato di quebracamina dà luogo realmente a gravissimi disturbi nella funzione respiratoria, e che il centro respiratorio viene da principio eccitato e poi progressivamente paralizzato. Secondo *Penzoldt* (2) che più di tutti si è occupato dell'azione del quebraco sulla respirazione e che l'ha introdotto in terapia, per l'introduzione per via ipodermica di 1-2 gr. di soluzione acquosa dell'estratto di quebraco (preparato secondo il metodo indicato da questo autore) si ha nel coniglio e nel cane una notevole dispnea, la quale sarebbe dovuta specialmente alla quebrachina contenuta nell'estratto. Secondo *Cesari* (3) invece è necessario usare dosi assai maggiori.

Per il I° autore il quebraco eserciterebbe un'azione sul centro respiratorio influenzandolo direttamente o indirettamente per la via del vago; il II° invece ammette soltanto un'azione diretta sul midollo spinale.

Harnak e *Hoffmann* (4) credono che tutti gli alcaloidi del quebraco paralizzino rapidamente la respirazione abolendo la eccitabilità del centro respiratorio tanto nei batraci che nei mammiferi; però in questi ultimi precederebbe un periodo fugace d'aumento dell'eccitabilità stessa, della frequenza e dell'ampiezza delle respirazioni; ma non tutti gli autori sono d'accordo su questo periodo di eccitazione, che io col solfato di quebracamina ho pure osservato.

Il *Coronedi* (1) che ha ripreso lo studio dell'influenza esercitata dal quebraco sul meccanismo respiratorio, esperimentò sui mammiferi (cavia, coniglio, cane) e trovò che con la droga (introdotta sotto forma di soluzione acquosa dell'estratto alcoolico) sia nel cavo peritoneale, sia nelle vene, in dosi oscil-

lanti da gr. 1,5 a gr. 3 per 1 kg. di peso corporeo nel cane, gr. 1,3 nel coniglio, si ottengono dei disturbi più o meno rilevanti della respirazione; fra questi il più costante, evidente e durevole è rappresentato dalla rarefazione dei moti respiratori, talvolta tanto forte da giungere fino all'arresto dei medesimi; viene poi l'irregolarità del ritmo respiratorio e si produce qualche volta un tipo particolare di respirazione periodica. Non sempre riesce evidente un periodo iniziale, sia pure fugace dell'azione, caratterizzato da aumento di frequenza e sopratutto di ampiezza dei movimenti respiratorî. La manifestazione di questo fenomeno, secondo il *Coronedi*, dipenderebbe in gran parte dalla dose adoperata, nel senso che tanto più quella è elevata, tanto meno è manifesto e durevole questo. Colla quebrachina il citato autore vide che si producono gli stessi disturbi, ma con maggiore prontezza e più notevole intensità, per cui si arriva rapidamente all'arresto della respirazione. Coll'aspido-spermina (altro alcaloide estratto dal quebraco bianco) non si osservano notevoli disturbi nel respiro o tutto al più si osserva una diminuzione di ampiezza. Tutti gli autori, facendo astrazione per *Éloy* e *Huchard* (5), i quali, esperimentando colla quebrachina, hanno asserito di non aver osservato cambiamenti nè del ritmo, nè dell'estensione dei movimenti respiratorî, sono d'accordo quindi nell'ammettere che il quebraco ed i suoi alcaloidi modifichino notevolmente e prevalentemente la funzione respiratoria; ed anch'io, esperimentando colla quebracamina, ho potuto osservare questi fenomeni.

Abbiamo visto infatti che il cuore non risente se non in grado minimo l'azione di questa sostanza e che gli abbassamenti di pressione arteriosa che si osservano quando vengano introdotte per via endovenosa notevoli quantità di tale sostanza, non si devono, almeno per la massima parte, ad una azione diretta sul cuore o sul suo apparato nervoso, ma ad un'azione vaso-dilatatrice generale, già dimostrata dal *Coronedi*.

Ed all'azione prevalente della quebracamina sulla funzione respiratoria, noi dobbiamo, io credo, il fatto della tossicità molto minore di questa sostanza negli animali a sangue

freddo, in confronto di quelli a sangue caldo. La morte in questi ultimi non avviene già per paralisi cardiaca, ma per arresto o gravissimi disturbi della respirazione.

Ora non c' è bisogno di spendere parole a dimostrare che la funzione respiratoria negli animali a sangue caldo è d'una importanza infinitamente maggiore che per quelli a sangue freddo.

* * *

Ho voluto ancora esaminare in questo studio se con la quebracamina si verificava il fenomeno osservato per primo dal *Coronedi* per la droga e per la quebrachina: vale a dire se l'orina degli animali avvelenati aveva la proprietà di ridurre il reattivo di *Fehling*. Il *Coronedi*, studiando il fenomeno nei suoi rapporti col quadro dell'azione biologica e sopratutto coi disturbi del respiro, vide che esso mancava quando il quadro è troppo lento a svilupparsi o poco netto nelle sue manifestazioni, oppure quando è troppo rapido o intenso. Per cui esisterebbe un nesso tra le proprietà dell' orina ed i disturbi della respirazione.

Io, esperimentando colla quebracamina somministrata in dosi leggiere, medie e forti, ho visto che talvolta l' orina degli animali (cani) presenta potere riducente del liquido di *Fehling*, ma che questo potere quasi sempre scompare dopo trattata l'orina con acetato di piombo, per cui non si può parlare in questo caso di presenza di glucosio. Al contrario esperimentando coll' estratto della droga (ottenuto secondo il metodo di *Penzoldt*) e con la quebrachina, ho ottenuto, ma in un solo caso però, la produzione d' una vera glicosuria. L'orina infatti conservava il suo potere riducente dopo precipitazione con acetato di piombo, era inoltre otticamente attiva e con acetato sodico e fenilidrazina dava luogo ad un abbondantissimo precipitato di cristalli di osazone. Sebbene per la scarsità del materiale io non abbia potuto determinare il punto di fusione dei cristalli di osazone e quindi decidere se si trattava realmente di glucosio o di un altro zucchero (per esempio pentosio), tuttavia io inclino a credere che si trattasse proprio di glucosio, non solo per esser l' orina otticamente attiva, ma anche per

essere riuscite negative le reazioni proprie dei pentosi (coll'orcina, floroglucina, colla carta imbevuta di anilina ecc). Del resto mi riservo di ritornare sull'argomento, tanto più che ho in corso uno studio sulle glicosurie di origine tossica.

Rispetto alla quantità di orina eliminata, posso affermare col *Coronedi*, che questa non aumenta punto per effetto della quebracamina o della droga, contrariamente a quanto hanno affermato *Éloy* e *Huchard*.

Sassari, Marzo 1903.

Bibliografia.

1. G. Coronedi, Ricerche preliminari intorno all'azione fisiologica del quebraco bianco e dei suoi alcaloidi. (Atti dell'Accademia medico-fisica di Firenze, 1899; Arch. italienne de Biologie, 1899).
—— Saggio di uno studio critico sperimentale intorno all'azione biologica del quebraco bianco e dei suoi alcaloidi. (Annali di Farmacoterapia e chimica, 1899, Fasc. XI-XII).
2. Penzoldt, (Berlin. klin. Wochenschr., 1879-80).
3. Cesari, Sull'azione fisiologico-terapeutica della corteccia di Quebracho bianco e dell'aspidospermina. (Archivio medico italiano, 1882).
4. Harnack und Hoffmann, Ueber die Wirkungen der alkaloide aus der Quebrachorinde. (Zeitschr. f. klin. Med., 1884).
5. Éloy et Huchard, L'écorce du Quebracho blanco et ses principes actifs (Arch. de Physiol., 1886).
Cf. ancora su questo argomento i seguenti lavori e trattati.
A. Cantani, Manuale di Farmacologia, IIª ed., F. Vallardi Ed., Milano.
Binz, Lezioni di Farmacologia sperimentale. Trad. A. Solaro. Napoli, 1888.
Bernatzik e Vogl, Manuale di materia medica, IIª ed., Trad. di P. Albertoni. F. Vallardi Ed., Milano.
Giacosa, Trattato di materia medica, IIª ed., Fratelli Bocca Ed., Torino.
G. Grettmann, Ueber Wirkung u. Anwendung verschied. Aspidospermin-preparäte. (Arch. f. exper. Path. u. Pharmac., 1881).
C. Bozzolo, Quebraco. Un recente acquisto nella terapia della dispnea. (Gazz. degli Ospitali, 1882).
L. Petrone, Sull'azione fisioterapeutica della corteccia di quebraco bianco e dell'aspidospermina ecc. (Lo Sperimentale, 1883).
E. Maragliano, Comunications thérap. sur la convallaria et le quebracho. (Centralbl. f. d. med. Wiss., 1883).
L. Bordoni, Sull'azione cardiaca dell'aspidospermina. (Bollet. della Società tra i cultori delle scienze mediche. Siena, 1886).

Laboratorio di Fisiologia di Firenze, diretto dal Prof. **Giulio Fano**.

SULLA RESISTENZA DEI CORPUSCOLI ROSSI

DI FRONTE A SOLUZIONI COLLOIDALI.

DOTT. E. CUMBO.

Secondo le odierne vedute scientifiche, il sangue si considera come un tessuto a sostanza intercellulare liquida, gli elementi morfologici del quale sono rappresentati dai corpuscoli rossi, dai corpuscoli bianchi, e dalle piastrine; quando pure si voglia dare a queste ultime il carattere di veri elementi morfologici. Ammettendo questa interpretazione è lecito domandarsi se le cellule del sangue sono dotate di proprietà funzionali analoghe a quelle che si sono osservate appartenere alle cellule dei diversi altri tessuti. Ad una simile domanda non è possibile rispondere se non esaminando più specificatamente le condizioni biologiche degli elementi in questione, e ciò è quanto io tenterò ora di fare. Siccome però lo scopo di questo mio lavoro è di indagare l'influenza che hanno certe speciali condizioni fisiche dell'ambiente sui corpuscoli rossi, io mi limiterò a studiare solo questi ultimi, tralasciando di occuparmi degli altri costituenti morfologici del sangue.

Prendiamo anzitutto in esame la struttura dei globuli rossi. Essi appaiono come corpiccioli aventi una forma quasi tante per tutte le varie classi dei mammiferi, nei quali sono ggiati come « dischi biconcavi privi di nucleo e rotondi, tta eccezione del cammello e del lama che li hanno di forma ittica ». Negli uccelli, rettili, anfibi e pesci, essi hanno un

nucleo, e nei mammiferi si mostrano nucleate le forme giovani, quali si riscontrano anche nel sangue allorquando, per riparare a perdite sanguigne abbondanti, si produce un esagerato lavoro degli organi ematopoietici. La emazia dunque rappresenta una cellula la quale è in origine nucleata, e perde il nucleo poi nello sviluppo filogenetico ed ontogenetico. Gli eritrociti sono elastici, molli, e costituiti da uno stroma imbevuto da una sostanza colorante, la quale impartisce ad essi il colore caratteristico ed è detta *emoglobina*. Non posseggono una membrana cellulare, ma questa è in certo modo sostituita da un addensamento maggiore del protoplasma alla periferia del globulo, come accade del resto in altri elementi cellulari.

Più importante per il caso nostro sarà il descrivere la costituzione chimica delle emazie. Incominciando dallo stroma, lo troviamo formato da *nucleoproteidi* e forse, in minima quantità, da globuline, da *lecitina*, *colesterina*, *fosfati*, *cloruro potassico*, una proteina recentemente scoperta da *Kossel*, nelle emazie degli uccelli e che è detta *istone*, e, nell'uomo ed in alcuni animali, da *cloruro sodico* in piccola quantità: insomma la composizione dello stroma risulta non molto dissimile da quella degli altri citoplasmi. Il contenuto acquoso è piuttosto scarso, a ragione del 57,7 °/₀ di acqua: la parte quantitativamente e funzionalmente più importante è rappresentata dall'emoglobina, la quale ha una percentuale dell'87,95 °/₀. Essa è una sostanza appartenente a quel gruppo di proteidi che hanno ricevuto il nome di *cromoproteidi*, in quanto sono chimicamente rappresentati dalla combinazione di una o più molecole d'una proteina vera con un nucleo pigmentato, o che può divenir tale in determinate condizioni di ossidazione della proteina cui sta unito. Proprietà caratteristica di questi cromoproteidi è quella di combinarsi più o meno labilmente con i gas ossigeno ed acido carbonico. In tal modo essi trasportano l'ossigeno dall'aria o dall'acqua, in cui gli animali si trovano, fino ai tessuti profondi, e l'acido carbonico da questi all'aria o all'acqua. Per essi dunque si effettua la respirazione dei tessuti, o interna, sì che furono anche chiamati *sostanze proteiche respiratorie*.

Secondo *Hoppe-Seyler* le emoglobine si troverebbero combinate nel protoplasma corpuscolare colla lecitina a formare dei composti insolubili nell'acqua e non cristallizzabili, al contrario di quel che è per le emoglobine libere, che sono solubili e cristallizzano; recentemente però si tende piuttosto ad ammettere [*Hüffner*] che non esiste alcuna differenza naturale fra l'emoglobina che si trova nei corpuscoli rossi e quella che noi possiamo artificialmente cristallizzare. Secondo un altro autore, il *Bohr*, esisterebbero poi nel sangue più emoglobine, anzichè una sola, le quali sarebbero distinte l'una dall'altra per la diversa capacità che esse avrebbero di fissare l'*O* per la quantità diversa di *Fe* che conterrebbero. Ad esse corrisponderebbero quattro ossiemoglobine contrassegnate secondo l'Autore dalle lettere α, β, γ, e ϑ e contenenti rispettivamente su un grammo di emoglobina 0.4, 0.8, 1.7, 2.7, cmc. di *O* alla temperatura ambiente e sotto una pressione parziale di *O* uguale a 150 mm. di Hg. Tali ossiemogobline hanno strie uguali di assorbimento e di esse la γ è quella che nelle preparazioni ordinarie si ottiene. Questi in modo molto sommario i dati istochimici capitali riguardanti la costituzione delle emazie. Tenendo conto di quanto ho riferito intorno ad essi, mi sembra si venga facilmente a concludere che i globuli rossi rappresentano degli elementi cellulari nei quali, pur essendo avvenuta una speciale differenziazione in rapporto colla funzione particolare che essi sono chiamati a compiere, si ritrova un fondo di costituzione istologica e chimica che li ravvicina alle cellule di altri tessuti.

Passiamo ora a studiare le proprietà biologiche dei globuli rossi. Essi, come le altre cellule, rappresentano degli individui dotati di vita; ma di tutte quelle funzioni che nel loro insieme la vita costituiscono, e che si riassumono in funzioni di nutrizione e di riproduzione, solo quelle appartenenti alla prima categoria noi possiamo osservare nei globuli rossi, giacc è nei corpuscoli rossi sviluppati, almeno dei mammiferi, non e ste riproduzione, fatto che è in rapporto colla scomparsa d nucleo in quelle cellule. Per quel che li riguarda mi resta q ndi solo da occuparmi dei fenomeni nutritivi.

Le sostanze nutritizie utilizzate dalle cellule dei tessuti sono contenute nella linfa la quale è secreta dalle pareti dei vasi sanguigni e penetra nei minimi spazi fra cellula e cellula e tutte le *circonda*, così formando quell'*ambiente interno* al quale esse tolgono quel che abbisogna loro per la vita, e in cui rigettano i materiali superflui prodotti del loro ricambio. Essa rappresenta dunque l'intermediario per cui si compiono gli scambi fra le cellule ed il sangue, e sarebbe anzi per alcuni proprietà caratteristica dei vasi dei diversi distretti vascolari corispondenti a organi di differente natura, quella di secernere una qualità di linfa speciale, per modo che quegli organi si verrebbero a trovare ciascuno in un ambiente diverso e precisamente in quello più adatto al loro metabolismo. L'ambiente dei corpuscoli rossi invece, si comprende facilmente, non è la linfa, ma il plasma sanguigno stesso che fa in questo caso ad un tempo da sostanza intercellulare e da liquido nutritizio. Ora è ammissibile che siano le condizioni fisiche speciali dello strato periferico del protoplasma insieme alle condizioni fisiche delle sostanze che si trovano da una parte e dall'altra di esso, quelle che regolano il passaggio di dette sostanze e favoriscono così gli scambi che servono alla nutrizione delle cellule.

Fra i numerosi e complessi fenomeni che presiedono a tali scambi bisogna ammettere abbiano parte importante i fatti osmotici e di diffusione, i quali, del resto, sono forse i soli di cui si sappia oggi qualcosa di preciso.

I fatti fisici di cui parlo si possono anzitutto raggruppare sotto tre diversi ordini, ossia fatti di *osmosi*, di *diosmosi* e di *diffusione*.

Numerosi autori si sono occupati dello studio dei fenomeni osmotici, fra essi convien citare anzitutto *Traube*, il quale si servì per studiarli delle così dette *membrane semipermeabili* o di *precipitazione*, e poi *Pfeffer* che collo stesso mezzo riuscì a costruire delle *cellule artificiali*, ed arrivò a formulare una prima legge secondo la quale la pressione osmotica di una soluzione è proporzionata alla concentrazione di essa e alla temperatura alla quale si fa l'esperimento. Nel 1 *von Vries* seguitò gli studi su questo argomento servendosi

però di cellule vegetali, e giunse anche egli a formulare una legge secondo la quale le soluzioni equimolecolari aventi lo stesso coefficiente isotonico sono isotoniche fra loro e colle cellule su cui si esperimenta: egli allora intendeva per coefficiente isotonico la affinità della sostanza sciolta per il solvente. Nello stesso anno *Vant Hoff* emise la sua teoria sulla costituzione delle soluzioni diluite, con cui ammetteva che le molecole delle sostanze disciolte si comportassero come se fossero gassose, obbedendo così alle leggi di *Boyle*, *Mariotte*, *Gay-Lussac*, *Avogadro*. In questo modo si veniva a stabilire una relazione fra la pressione osmotica e le condizioni fisiche delle soluzioni, in altri termini si poteva enunciare una nuova legge secondo la quale le soluzioni isotoniche avevano uguali la tensione di vapore e l'abbassamento del punto di congelazione e del punto di ebullizione. Ma *Vant Hoff* trovò che non tutte le soluzioni rispondevano esattamente a questa legge, e fu costretto ad introdurre un nuovo coefficiente isotonico il quale esprimeva questa volta il rapporto fra il potere osmotico di una data soluzione calcolato secondo la legge, e quello trovato sperimentalmente.

Questa apparente incostanza fu nel 1887 chiarita da *Arrhenius*, il quale la spiegò ammettendo che quelle sostanze che sembravano fare eccezione subivano nelle loro soluzioni una dissociazione elettrolitica percui alle molecole loro si sostituivano gli *ioni* componenti le molecole stesse; sì che il potere osmotico veniva ad aumentare proporzionalmente al numero di molecole *attive*, ossia scisse nei gruppi conduttori della elettricità. In tal modo la legge di *Vant Hoff* fu confermata, e rimase vera l'affermazione che le soluzioni isotoniche sono equimolecolari, intendendo per tali due soluzioni che abbiano un ugual numero di molecole dissociate. Questi molto in breve i dati che oggi si posseggono per interpretare i fenomeni osmotici.

Se ora pensiamo che il protoplasma si può rappresentare me una massa liquida contenente in soluzione certe determinate sostanze, circondate per effetto della sua tensione superficiale da uno strato periferico detto *tonoplasta*, che si può

assomigliare ad una membrana a volte semipermeabile, a volte porosa; se pensiamo inoltre che la cellula, per quel che riguarda gli elementi morfologici del sangue, è immersa nel plasma, il quale è una vera e propria soluzione acquosa di materiali organici ed inorganici, avente anche essa un grado determinato di tensione variabile in rapporto coi cambiamenti quantitativi e qualitativi delle sostanze contenute nel plasma medesimo; se riflettiamo a tutti questi fatti noi ci accorgiamo come, fra cellula e plasma corra lo stesso rapporto che esiste fra due soluzioni aventi ciascuna un dato potere osmotico e separate fra loro da una membrana rappresentata nel caso nostro dal tonoplasta. Perchè fra quei due liquidi si determinino degli scambi osmotici sarà necessario che avvengano delle differenze nel potere osmotico dei due liquidi stessi, le variazioni di isotonia dei quali saranno precisamente soggette alle leggi cui di sopra ho accennato. Se dunque il potere isotonico del plasma sarà inferiore a quello del protoplasma si stabilirà una corrente osmotica che sarà diretta verso l'interno di quest'ultimo; accadrà il contrario se il plasma sarà ipertonico per rispetto alle sostanze cellulari: se poi da una parte e dall'altra si avrà una tensione uguale, non si produrrà veruna corrente, e non avverrà quindi alcuno scambio.

Ho fatto menzione poc'anzi oltre che di osmosi, anche della diosmosi.

Questi due fenomeni rientrano ambedue nella categoria dei fatti osmotici, ma esiste fra essi una differenza notevole, differenza che dipende essenzialmente dalle condizioni speciali di permeabilità della membrana attraverso alla quale quei fatti si compiono. Può darsi che questa permetta soltanto il passaggio del solvente e non delle sostanze in esso disciolte, sì che quando per differenze di pressione osmotica si avrà produzione di una corrente, questa sarà data dal solvente solo; allora, considerando le cose nella cellula, il tonoplasta agirà da membrana semipermeabile. Ma può accadere che sia possibile anche il passaggio delle sostanze in soluzione, ed allora si ha attraverso il setto uno scambio di esse insieme coi liquidi che le contengono sciolte; il tonoplasta in questo caso

non fa più da membrana semipermeabile, ma da membrana porosa.

Nel primo caso si parla di osmosi semplicemente, nel secondo di diosmosi, e si distingue questa ultima in endosmosi ed esosmosi a seconda della direzione delle correnti rispetto ad una delle due soluzioni che si trovano in contatto reciproco. Una tale proprietà delle membrane di essere permeabili ora per il solo solvente, ora per questo e per le sostanze che esso tiene disciolte, dipende da cause svariate che possono temporaneamente modificarla.

Fra queste cause alcune sono insite nella membrana stessa e dipendenti dalle sue speciali condizioni fisiche, altre dipendenti dalle modificazioni che si determinano nei liquidi che sono da lei separati. A proposito di queste ultime cade in acconcio il ricordare quanto ho già detto riguardo allo stato degli elettroliti in soluzione, le molecole dei quali si trovano scisse nei loro ioni.

Perchè delle molecole così divise passino attraverso alla membrana bisogna che ambedue gli ioni siano capaci di effettuare un tale passaggio, chè se il setto è impermeabile per uno di essi, l'altro, legato al primo, non lo attraversa anche se sia per sè atto a farlo. Però anche in casi simili un passaggio diviene possibile se dallo stesso lato della membrana ove si trovano le molecole contenenti l'ione arrestato, ve ne sono altre che hanno l'ione dello stesso nome capace di passare, oppure se dall'altro lato ne esistano di quelle il cui ione di nome contrario sia atto ad attraversare la membrana stessa. In questo modo si possono interpretare in parte non piccola i fenomeni di nutrizione delle cellule.

Ma non si limitano a questi i fatti fisici che vi presiedono. Ho già accennato alla diffusione, ed ora la voglio descrivere in breve.

Una soluzione diffonde in un'altra o quando non esiste embrana che le separi, o quando la membrana esiste, ma scia passare ugualmente bene il solvente ed i materiali diiolti. In questo fenomeno hanno una parte capitale la oncentrazione della soluzione e l'attrito che incontrano le

molecole movendosi. La diffusione avviene dalla soluzione più concentrata verso quella meno concentrata con una forza che è in rapporto diretto colla differenza fra le due concentrazioni. Anche questo fatto può considerarsi come dipendente dalla differenza di pressione osmotica, fra le due soluzioni in contatto; e la diffusione avviene precisamente dalla parte in cui la pressione parziale è più elevata verso quella in cui la pressione è più bassa. Anche per il fenomeno della diffusione hanno importanza i fatti di dissociazione elettrolitica che abbiamo visto prender parte così attiva nella produzione della osmosi. Infatti supponendo la molecola attiva di un elettrolite scissa nei suoi ioni, questi, carichi di una certa quantità di elettricità di nome contrario, esercitano fra loro una attrazione reciproca percui non possono separarsi del tutto; per questo essi nell'atto in cui si compie il movimento di translazione della molecola dovranno muoversi insieme, e, supponendo siano due gli ioni componenti, la velocità di essa sarà data dalla somma algebrica della velocità dei due ioni. Così se uno dei due ioni avrà velocità minore determinerà una diminuzione nella velocità dell'altro che, se libero, avrebbe un moto più rapido, e il secondo alla sua volta farà accelerare il moto del primo. Ma v'ha di più. Se si suppone che nella soluzione si trovino altri ioni liberi aventi una carica elettrica opposta a quella degli ioni appartenenti alla sostanza che diffonde, l'attrazione determinata dalle cariche elettriche contrarie determinerà un aumento della velocità di diffusione.

Questa è finalmente poi anche modificata dalle resistenze che incontrano al movimento le molecole, resistenze che stanno in parte in rapporto colla speciale natura della sostanza che diffonde, percui saranno minori negli elettroliti, più forti nei corpi non elettroliti, e ancor più grandi se si tratti di sostanze colloidi. Su questo punto speciale avrò occasione di tornare più tardi.

I fatti che ho in breve enumerati è lecito credere a ciano parte dei fenomeni di assorbimento e di escrezione d cellule, ma non è possibile dimostrare che essi si produc sempre; anzi si è osservato come i sali difficilissimamente

netrino nell' interno delle cellule, e come, quando vi penetrano, lo facciano in quantità minima. Questo fatto che fu riscontrato appunto studiando i fenomeni osmotici sui globuli rossi, si spiega male quando si pensa che necessariamente, affinchè quelle cellule si nutrano, debbono introdursi in esse, ad esempio, delle sostanze proteiche le cui molecole sono immensamente più grandi di quelle dei sali inorganici. Se si dovesse trattare di un semplice passaggio molecolare effettuantesi per la pressione osmotica che esiste nelle sostanze in cui i globuli rossi sono immersi, si avrebbe nel fatto in parola una contradizione palese; giacchè, se dai pori dello strato superficiale passano, per una data pressione, molecole molto voluminose, per una pressione uguale o magari più alta per quegli stessi pori dovrebbero, a più forte ragione, passare elementi molecolari di molto più piccoli. Se questo non è, bisogna ammettere che quello strato, il tonoplasta, possa modificare l' ampiezza dei suoi pori e permettere così a determinate sostanze la penetrazione nella cellula, impedirla ad altre. Ora come spiegare fisicamente una tale proprietà del tonoplasta? Non abbiamo conoscenze sufficienti per dare una tale spiegazione e ci possiamo tutt' al più limitare a fare delle supposizioni sulle cause che la determinano.

Potrebbe darsi infatti che, come ho detto or ora, la membrana cellulare fosse capace, a seconda dei casi, di rendere i suoi pori più ampi o più ristretti, o anche di chiuderli del tutto, e potrebbe darsi che un simile fatto avvenisse in grazia di speciali movimenti di retrazione o di distensione producentisi in seguito a stimoli particolari portati alla membrana dalle singole sostanze che venissero in suo contatto.

Nè è questa la sola ipotesi che si può fare, ed io andrei troppo per le lunghe se volessi enumerar qui tutti gli altri fattori che si possono supporre capaci di influire sugli scambi di materiali fra le cellule ed i liquidi organici, come sarebbe la struttura fisica della membrana vivente che ci è ignota, il suo proprio metabolismo, dei fatti di imbibizione, di assorbimento da parte del citoplasma, la natura delle sostanze colloidi, elettroliti e non elettroliti, contenute nel pla-

sma sanguigno, la qualità degli ioni appartenenti a elettroliti dissociati, e finalmente lo speciale metabolismo del citoplasma che la membrana circonda. Come si vede, i fatti sono complessi a tal segno che ci è assolutamente impossibile seguirli in tutto il loro sviluppo. Il poco che si sa, e che di sopra ho tentato descrivere, ho già accennato una volta come fosse appreso in grandissima parte studiando l'effetto delle soluzioni saline sulle emazie e determinando per mezzo della resistenza che queste ultime presentavano il potere osmotico di quelle soluzioni.

Debbo a questo proposito, prima di parlare dei resultati di tali studi, ricordare gli altri metodi che si adoperano per la determinazione del potere osmotico delle soluzioni. Uno di essi è quello per cui si calcola un tal potere misurando l'abbassamento del punto di congelazione delle soluzioni a mezzo di uno speciale apparecchio ideato dal *Beckmann*. Altro metodo è quello della plasmolisi in cui ci si serve di cellule vegetali (*De Vries*); altro ancora quello dell' ematocrito fondato sul principio dell'aumento di volume delle emazie immerse in una soluzione per loro ipotonica. Finalmente sono da citarsi il metodo ottico di *Tamman*, e quello della cellula artificiale di *Pfeiffer*, unico diretto, ma di applicazione difficilissima.

Dirò subito che i risultati ottenuti con questi vari mezzi d'indagine sono stati sufficientemente concordi con quelli dati dal metodo dei corpuscoli rossi, e passerò a dire più specialmente di quest'ultimo come quello che mi ha servito nelle ricerche di cui mi sono occupato.

Donders e *Hamburger* furono i primi a far tali studi sui globuli rossi, ed il secondo ha dato il suo nome al metodo in parola, il quale è fondato sul fatto che quando si pone qualche goccia di sangue, o dei corpuscoli rossi separati da questo colla centrifugazione, in soluzioni saline di titolo sempre decrescente, si osserva che per una certa concetrazione i globuli rossi in sulle prime mantengono opaca la soluzi , mentre a partire da quella concentrazione in giù le soluz i rimangono limpide; esaminandole più tardi, queste ult e sono ancora tali e quali erano subito dopo averci mess il

sangue, le altre invece che erano prima opache, sono ridiventate limpide e per di più incolore, mentre al fondo di esse si trova un deposito composto dai corpuscoli rossi, i quali non sono stati separati dalla sostanza colorante loro, come è accaduto per le soluzioni a titolo inferiore. L'interpretazione del fatto si raggiunge pensando che nelle soluzioni ipotoniche il pigmento si separa dai corpuscoli rossi in conseguenza del potere osmotico basso delle soluzioni stesse: anche qui però il meccanismo del fenomeno ci sfugge completamente. All'esame microscopico si osserva come in tal caso i corpuscoli rossi oltre ad essere decolorati sono dapprima globosi e rigonfi, aumentano in una parola di volume.

Esaminando invece le soluzioni in cui si ha il deposito, si trova questo costituito da globuli rossi di aspetto quasi normale o normale addirittura. In tal modo si ottiene da una parte il valore del potere isotonico delle soluzioni in parola, dall'altra si misura il grado di resistenza dei globuli rossi per soluzioni di determinata concentrazione.

Per completare lo studio dei fenomeni biologici noti dei corpuscoli rossi, dirò ora qualcosa del metabolismo loro, e a questo proposito citerò le ricerche di *Bottazzi* (1), il quale ha potuto stabilire vari fatti importanti. Egli ha trovato che il contenuto di albumina delle emazie, determinato calcolando la quantità di N, sta in rapporto diretto collo stato di nutrizione degli animali. Nella inanizione si osserva, secondo questo autore, una diminuzione lenta e progressiva dell'N contenuto nei globuli rossi: di grado assai lieve bensì, ma significante tenuto conto della funzione ossigenante e dell'ambiente ricco di materiali nutritizi in cui si trovano le emazie. Insieme si ha un aumento progressivo della concentrazione dei corpuscoli rossi. Esiste poi un minimo fisso di azoto per i corpuscoli rossi a cui questi si avvicinano tanto più presto quanto più ricchi sono di sostanze azotate.

In seguito a salasso la concentrazione dei globuli rossi menta, diminuisce in seguito ad iniezioni endovenose di

(1) Bottazzi, *Ricerche sul metabolismo dei corpuscoli rossi del sangue.* erimentale, 1895).

NaCl. La quantità percentuale di *N* non subisce grandi cambiamenti e non è d'altronde in rapporto colle variazioni di concentrazione. Nell'anemia finalmente si ha un abbassamento di concentrazione unito a diminuzione di sostanze azotate e in parte forse dovuto a quest'ultime, stante la distruzione di materiali azotati conseguente a gravi emorragie, in parte fors'anche dovuto alla presenza di emazie giovani che, come qualunque elemento giovane, sono più ricche in acqua di quelle vecchie.

Queste le cognizioni che, per le esperienze dell'autore citato, si posseggono sul metabolismo dei corpuscoli rossi: insieme con quello che più sopra ho detto dei fenomeni conosciuti riguardanti gli scambi osmotici nelle emazie, esse rappresentano in succinto i concetti fondamentali noti sulle funzioni biologiche dei corpuscoli rossi. Non sono mai entrato a parlare della funzione respiratoria di questi elementi, e solo ne ho dato un accenno parlando delle sostanze pigmentate che essi contengono, perchè una tal funzione più che far parte dei fenomeni vitali loro in particolar modo, rientra fra le funzioni generali dell'organismo; senza voler escludere con questo che anche i globuli rossi abbiano, come è naturale, a godere degli effetti di essa al pari di tutte le altre cellule.

Un'ultima parola intorno alle condizioni fisiche del plasma. Ho già detto più volte come esse debbano necessariamente aver influenza sugli scambi che si effettuano nei corpuscoli rossi; però, se si riflette un momento, si comprende come, affinchè questi ultimi possano mantenersi integri, è anche indispensabile che il plasma conservi sempre un certo determinato grado di potere osmotico, altrimenti dei cambiamenti bruschi di questo porterebbero, ogni volta che si verificassero, disturbi funzionali gravissimi non solo per quel che riguarda il sangue ed i suoi elementi, ma l'organismo intero. « Il faudrait transformer la nature fonctionnelle de l'orga« nisme pour voir transformée la pression osmotique du sang ». Così si esprime il prof. *Fano* (1) nel lavoro fatto in collabo

(1) Fano et Bottazzi, *Sur la pression osmotique du sérum du sang e la lymphe en differentes conditions de l' organisme.* (Arch. ital. de B Vol. 26, pag. 45).

zione col dott. *Bottazzi*, nel quale i due autori si sono appunto occupati di un tal fatto. Aggiungerò che essi sono riusciti a dimostrare come sempre, qualunque sia la lesione che si produce in un animale, il potere isotonico del sangue si mantiene inalterato.

Debbo ora finalmente venire a spiegare l'obbietto della presente ricerca. Ho accennato prima di volo, quando parlavo dei fenomeni osmotici, della influenza che forse poteva avere su quei fatti la presenza di sostanze colloidi nei liquidi in cui essi si producevano. Converrà ora specificare un po' più, e non sarà inutile prendere anzitutto in considerazione le proprietà fisiche dei colloidi.

Sono questi sostanze amorfe, non volatili, con proprietà chimiche mal determinate; essi formano coll'acqua dei liquidi di densità varia i quali hanno una viscosità, o attrito interno, di grado sempre rilevante rispetto a soluzioni di sostanze non colloidi; tutte le modificazioni che queste ultime sono capaci di determinare sciogliendosi in una soluzione acquosa, le prime le producono in grado minimo. Il potere di diffusione di esse è debole, i reattivi le penetrano lentamente; un tal fatto ha già la sua importanza non lieve e secondo *Gautier* serve ad assicurare all'organismo vivente in genere, la cui caratteristica è (*Grimeaux*) appunto lo stato colloide, quella uniformità e lentezza di trasformazioni fisico-chimiche, le quali gli sono sopratutto necessarie. Un autore che molto si è occupato delle proprietà fisiche dei colloidi è *Graham*, che giunse a stabilire un principio molto importante, secondo il quale i liquidi colloidi non esercitano alcuna influenza sulla diffusione nel loro interno dei corpi cristalloidi, mentre ritardano quella, già lenta, di altri corpi colloidi. Questo fatto è dovuto probabilmente a che le molecole saline di volume piccolissimo non trovano difficoltà a passare attraverso alle larghissime maglie di quella specie di reticolo che rappresenta la sostanza colloide disciolta, entre per contro le molecole di altri colloidi trovano per loro grandezza più difficoltà al passaggio.

Fino ad ora i fenomeni osmotici furono studiati nei globuli rossi adoperando semplici soluzioni saline in acqua, po-

nendo quindi gli eritrociti in condizioni del tutto speciali, e assai diverse da quelle in cui essi si trovano quando sono circondati dal plasma sanguigno. Questo contiene indubbiamente delle sostanze colloidi che gli conferiscono la viscosità speciale di cui è fornito. Si può quindi chiedersi se un tale attrito interno ha un' influenza sulla capacità dei globuli rossi a resistere più o meno alle soluzioni saline di diverso grado di concentrazione. Intanto abbiamo visto come la diffusione dei sali non sia disturbata dalla presenza di una sostanza colloide, e, per conseguenza, dotata di un discreto grado di viscosità; per cui in questo senso non sembrerebbe che il colloide potesse avere influenza sui fenomeni osmotici. Ma d'altra parte abbiamo detto che una proprietà importantissima di una tal sostanza è quella di rallentare in certo modo i processi svariati che rappresentano l' attività funzionale degli elementi cellulari; ci è quindi lecito pensare che forse qualcosa di simile possa avvenire riguardo alla resistenza che presentano i corpuscoli rossi ad una data soluzione salina, quando questa sia fatta in sola acqua, o in acqua contenente un principio colloide, caso in cui la soluzione si avvicina di più, quantunque non possa pretendere di equivalergli, al plasma in cui i globuli rossi sono immersi. Tanto più questo se si pensa che assai probabilmente il tramite per cui i sali riescono in natura a passare in quantità minima nell' interno delle cellule è rappresentato appunto dai corpi proteici coi quali essi vengono a combinarsi ed insieme coi quali penetrano attraverso i pori delle membrane cellulari, o del tonoplasta.

Oltre a questo *Heffter* (1) prima, e poi *Albanese* (2) hanno dimostrato che per il miocardio la viscosità del liquido nutritizio è addirittura di prima importanza, al punto che il cuore cessa il suo lavoro quando si trovi in un ambiente non viscoso.

Questo dimostra intanto che sulla funzionalità di alcuni tessuti, non fosse che quello solo del cuore, la viscosità ha

(1) HEFFTER, *Ueber die Ernährung des arbeitensten Froschherzens.* (Ar f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXIX, S. 41).

(2) ALBANESE, *Influence des propriétés physiques des solutions sur le co de grenouille.* (Arch. ital. d. Biol., Vol. 25, pag. 308).

parte non piccola; resta a vedere in quali essa eserciti in modo più spiccato la sua influenza, e se alcuni ne esistano in cui non la eserciti affatto. Queste considerazioni mi indussero ad intraprendere delle ricerche in quel senso, e mi proposi perciò di studiare se, e come si modificasse la resistenza dei globuli rossi alle soluzioni saline più o meno diluite, quando le soluzioni contenessero oltre il sale, anche una sostanza colloide.

Pensai prima di tutto che sarebbe stato assai importante il poter fare le mie esperienze adoperando un liquido il quale avesse avuto una viscosità, se non identica, per lo meno vicina a quella del plasma sanguigno. Ora facendo io le determinazioni di isotonia alla temperatura ambiente, dovevo cercare di ottenere una soluzione viscosa tale che alla temperatura alla quale si eseguiva l'esperimento possedesse una viscosità simile a quella del plasma nell'organismo animale. Una difficoltà si presentava, ed era quella di determinare appunto l'attrito interno del plasma suddetto, difficoltà dipendente principalmente dal non potersi esso raccogliere, e senza aggiunta di alcuna sostanza, mantenere incoagulato, a meno di non abbassarne moltissimo la temperatura; per cui mi dovetti contentare di prendere in considerazione la viscosità del solo siero di sangue. Quest'ultimo era già stato studiato in tal senso, ed il *Bottazzi* (1) ha determinato il tempo di deflusso del siero di sangue di cane a temperatura di 39°, e in media ha trovato che quel siero raccolto previa defibrinazione e centrifugazione e poscia filtrato dava un tempo di deflusso di 20′, 30″. L'*Albanese* ora nei suoi lavori sull'influenza della viscosità sul lavoro del cuore faceva uso di una soluzione di gomma arabica al 2 % che secondo lui è isoviscosa col sangue di bue defibrinato: paragonata però col siero di sangue di cane essa ha una viscosità troppo alta, ed io dovetti allungarla in modo da avere una soluzione che su tre parti della suddetta al 2 % contenesse una parte di acqua distillata. Con un tal liquido feci allora le soluzioni isotoniche di NaCl, la prima delle

(1) Bottazzi, *Ricerche sull'attrito interno (viscosità) di alcuni liquidi umici e di alcune soluzioni acquose di sostanze proteiche.* (Orosi, Giornale chimica e farmacia. 1897, Firenze).

quali conteneva 0,64 % del sale e le seguenti avevano un titolo sempre inferiore del precedente di 0,04 %; l'ultima soluzione aveva un titolo di 0,16 %.

Riporto qui il tempo di deflusso di questa determinato col viscometro di *Ostwald;* esso corrisponde a 24′ 43″ 7 alla temperatura ambiente di 19°, 4.

Come si vede, la viscosità di questa soluzione è un po' superiore a quella media ottenuta dal *Bottazzi* per il siero di cane alla temperatura ordinaria del corpo di questo animale; mi son voluto però tenere un po' più alto, per avvicinarmi di più alla viscosità del plasma che avevo ragione di ritenere anche essa superiore a quella del siero suddetto.

Non ho determinato poi le variazioni che subiva la viscosità nelle diverse soluzioni, giacchè essa poteva di ben poco cambiare per quantità così piccole di sale in più.

Preparate così le mie soluzioni viscose in numero di 13, determinavo con esse l'isotonia dei globuli rossi, paragonandole sempre con una serie di soluzioni di NaCl semplice aventi ugual titolo. L'esperienza era fatta nel modo seguente. Dopo aver ben pulito i tubi d'assaggio ed averli lasciati a seccare in stufa per non meno di 12 ore, li ponevo, come si suol fare, in un sostegno che portava scritto davanti a ciascun tubo il titolo della soluzione che corrispondeva a quel grado della serie, ed in ogni tubo versavo 10 cmc. di una tal soluzione.

Estraevo poi dalla giugulare di un cane una certa quantità di sangue aspirandolo mediante la siringa *Banti*, ben nota, e che non sto qui a descrivere. Del sangue così raccolto lasciavo cadere rapidamente tre goccie in ogni provetta, badando che non rimanesse coagulato nel liquido. A tale scopo capovolgevo dolcemente ogni provetta un paio di volte tenendola ben chiusa col pollice. Fatto questo, non mi rimaneva che notare i resultati dell'esperienza. Un appunto che si potrebbe muovere a questa maniera di procedere è che io lasciavo cadere nei liquidi isotonici non già dei corpuscoli r[illegible] i soli, ma con essi il plasma contenuto nelle tre goccie depo[illegible] in ogni provetta, la cui viscosità e tonicità potevano aver [illegible] fluenza sui resultati delle esperienze.

Faccio però osservare che anche se si volesse ammettere che una quantità così piccola di plasma fosse stata capace di portare delle differenze apprezzabili, in ogni caso tali differenze erano costanti per ciascuna soluzione, percui l'errore veniva in ultima analisi a scomparire.

Le prime tre esperienze furono fatte adoperando il sangue di un grosso cane barbone in condizioni di nutrizione eccellenti.

Facevo una prima osservazione dell'aspetto delle provette venti minuti circa dopo l'immissione in esse delle goccie di sangue, ed una seconda a distanza di sei ore circa. A questa aggiungevo l'esame microscopico del liquido, a scopo di vedere se si potevano ancora in esso scoprire emazie, o se queste erano distrutte completamente. Nelle tre prime tavole che seguono, ho riferito i dati ricavati dalle osservazioni fatte in tal modo.

Nella quarta esperienza, che può esser considerata come doppia, ho adoperato il sangue di un altro cane, un po' più piccolo del primo, ma esso pure in istato ottimo, ed ho contemporaneamente esperimentato su due serie di soluzione di gomma, contenenti ciascuna i liquidi titolati usati per le precedenti, confrontando ambedue le serie poi con una serie di soluzioni acquose di NaCl pure identiche a quelle delle altre esperienze.

Non ho fatto in questo caso la prima osservazione a distanza di 20′, ma solo l'altra dopo 6 ore, che è la più importante. La quarta tavola contiene appunto i resultati di questa ultima esperienza.

Esperienza I. *23 Maggio 1898.*

Gomma	NaCl
Osservazione I.	
Dalla provetta contenente la soluzione 0,64 a quella 0,48, opacamento decrescente. Diminuisce ancor più nella 0,44. Rischiaramento notevole dalla 0,40 alla 0,16.	Dalla provetta contenente la soluzione 0,64 a quella 0,48 compresa, opacità massima. Rischiaramento notevole nelle provette 0,44 e 0,40. Dalla 0,36 alla 0,16 sono limpide.
Osservazione II.	
Tutte le provette sono limpide. Dalla 0,64 alla 0,56 decolorazione completa. La 0,52 lievemente tinta in rosso. Dalla 0,48 in giù colorazione crescente. Nelle prime 4 manca il coagulo, esiste a partire dalla 0,48, e va diminuendo in giù. Dalla 0,64 alla 0,48 deposito decrescente di globuli rossi; dalla 0,44 in giù, manca. *Esame microscopico.* Globuli rossi scomparsi nella 0,24.	Tutte le provette sono limpide. Dalla 0,64 alla 0 52 decolorazione completa. Dalla 0,48 alla 0,16 colorazione rossa con aumento progressivo. Dalla 0,64 alla 0,44 deposito decrescente di globuli rossi. Manca dalla 0,40 in giù. Nelle prime 6 si ha il coagulo caratteristico; manca dalla 0,36 in giù. *Esame microscopico.* Globuli rossi scomparsi nella 0,32.

Esperienza II. *26 Maggio 1898.*

Gomma	NaCl
Osservazione I.	
Dalla 0, 64 alla 0, 48 opacità forte un po' decrescente. Le 0, 44 e 0, 40 sono un po' più chiare. La 0, 36 quasi limpida. Dalla 0, 32 in giù limpidezza completa.	Opacità forte dalla 0, 64 alla 0, 48 compresa. Nelle 0, 44 e 0, 40 opacità molto minore. Nella 0, 36 limpidezza quasi perfetta. Dalla 0, 36 in giù limpidezza completa.
Osservazione II.	
Tutte le provette sono limpide. Dalla 0, 64 alla 0, 16 graduale aumento della colorazione dal rosso sbiadito al rosso. Dalla 0, 64 alla 0, 48 deposito decrescente di globuli rossi. Dalla 0, 52 in giù esiste il coagulo caratteristico. *Esame microscopico.* I globuli rossi sono scomparsi nella 0, 32.	Tutte le provette sono limpide. Dalla 0, 64 alla 0, 56 decolorazione completa. Dalla 0, 52 alla 0, 16 colorazione crescente. Dalla 0, 64 alla 0, 48 deposito decrescente di globuli rossi. Dalla 0, 44 in giù colorazione rossa e mancanza di sedimento corpuscolare. Non esiste coagulo in nessuna provetta. *Esame microscopico.* I globuli rossi sono scomparsi nella 0, 40.

Esperienza III. *30 Maggio 1898.*

Gomma	NaCl
Osservazione I.	
Nella 0, 64–0,52 opacità completa, colorito rosso. Nella 0, 48 opacità molto minore, colore uguale alle precedenti. Dalla 0, 44 in giù limpidezza sempre crescente; colorito rosso.	Nella 0, 64 e 0, 60 opacità completa con colorazione rossa. Nelle 0, 56–0, 48 opacità diminuita e colorito pure rosso. Dalla 0, 44 in giù limpidezza completa con colorito rosso uniforme per tutte le provette.
Osservazione II.	
Tutte le provette sono limpide. La 0, 64 incolora, la 0, 60 quasi, la 0, 56 leggermente tinta in giallognolo. Dalla 0, 52 alla 0, 16 colorazione sempre crescente, dal rosso al rosso vivo. Dalla 0, 64 alla 0, 56 esiste un deposito di globuli rossi che decresce progressivamente. Dalla 0, 52 in giù, coagulo come nelle osservazioni precedenti. *Esame microscopico.* Scomparsi i globuli rossi nella 0, 24.	Tutte le provette sono limpide. La 0, 64, la 0, 60 e la 0, 56 sono incolore, la 0, 52 leggermente colorita in giallognolo. La 0, 48 è tinta in rosa, le altre sono di colorito rosso. Dalla 0, 64 alla 0, 48 deposito visibile di globuli rossi in quantità decrescente. Dalla 0, 44 in giù manca il deposito. Il coagulo non si osserva in nessuna provetta. *Esame microscopico.* Scomparsi i globuli rossi nella 0, 36.

Esperienza IV. *4 Giugno 1898.*

Gomma	NaCl
Serie A. Tutte le provette sono limpide. Sono incolore dalla 0, 64 alla 0. 60 inclusa. Dalla 0, 56 alla 0,16 colorazione crescente. Dalla 0, 64 alla 0, 48 esiste deposito decrescente di globuli rossi. Il coagulo è visibile in tutte le provette, con diminuzione sensibile nelle ultime provette. *Esame microscopico.* Globuli rossi scomparsi nella 0, 20.	Tutte le provette sono limpide. Sono incolore dalla 0, 64 alla 0, 56. Dalla 0, 52 in giù la colorazione va progressivamente aumentando. Il deposito di globuli rossi è visibile dalla 0, 64 alla 0, 48. Non esiste coagulo in alcuna provetta. *Esame microscopico.* I corpuscoli rossi scomparsi nella 0, 24.
Serie B. Tutte le provette sono limpide. Incolore la 0, 64 e 0, 60. Dalle 0,56 alla 0, 16 colorazione crescente. Deposito crescente di globuli rossi dalla 0, 64 alla 0, 48. Per il coagulo id. come per la serie *A*. *Esame microscopico.* Globuli scomparsi nella 0, 20.	

I dati ottenuti sono riassunti nel quadro seguente:

Numero dell'esperienza	Decolorazione		Deposito		Coagulo		Esame microscopico	
	g	NaCl	g	NaCl	g	NaCl	g	Na Cl
I	0,56	0,52	0,48	0,44	dalla 0,48 in giù	0,64-0,44	Scomparsi nella 0,24	Scomparsi nella 0,32
II	0,56	0,56	0,48	0,48	dalle 0,52 in giù	manca	— 0,32	— 0,40
III	0,60	0,56	0,52	0,48	dalla 0,52 in giù	manca	— 0,24	— 0,36
IV a.	0,60	0,56	0,48	0,48	in tutte	manca	— 0,20	0,24
IV b.	0,60		0,48		in tutte		— 0,20	

Passo ora a descrivere un'altra esperienza che volli fare per riscontrare in certo modo i dati ottenuti. Invece di adoperare la soluzione di NaCl in gomma, tentai la prova con soluzioni simili in albumina d'uovo, questo per vedere se i fatti osservati erano veramente conseguenza della viscosità dei liquidi isotonici coi quali avevo cimentata la resistenza dei globuli rossi, oppure se non si trattava piuttosto di proprietà speciali di natura chimica della sostanza viscosa adoperata, ossia della gomma arabica. A tal uopo adoperai una soluzione di albumina d'uovo previamente sbattuta con ogni cura. Il tempo di deflusso fu determinato, come per la gomma, col viscometro di *Ostwald* del laboratorio, e trovai così che per ottenere un liquido il quale fosse con sufficiente approssimazione isoviscoso colla gomma già adoperata, era necessario fare una diluzione dell'albumina al 30 %.

Il tempo di deflusso di questa alla temperatura solita di 19°,4, cui era stato determinato quello della gomma, si trovò esser allora per la soluzione avente il titolo più basso di N 1 ossia 0,16 %, di 24′ 10″ 4, molto vicino quindi alla corrispondente soluzione gommosa che ho già detto aveva una viscosità pari a 24′ 43″ 7.

I risultati dell'esperienza fatta coll'albumina d'uovo in luogo della gomma furono, lo confesso, inaspettati. Infatti un'ora dopo l'immissione del sangue nelle provette, e mentre le soluzioni di NaCl si comportavano nel modo solito, tutte le provette si mostravano perfettamente limpide, colorate in rosso vivo, senza alcun deposito al fondo, senza coagulo. All'esame microscopico non si rinvenne traccia di emazie in nessuna di esse. Sospettando che le soluzioni albuminose fossero tutte divenute ipotoniche per una combinazione del sale coi corpi proteici, fu determinato l'abbassamento del punto di congelazione della soluzione col titolo 0,16 % di NaCl e si trovò che essa dava un abbassamento di 0,53 %. Ora è noto come l'abbassamento dato dalla soluzione di NaCl 0,91 % che si considera come isotonica è di 0°,55, per cui una soluzione di sale a 0,16 % dovrebbe avere un potere isotonico molto minore; in questo caso non solo non era minore l'isotonia, ma era anzi superiore di assai a quello che avrebbe dovuto essere, quindi il sospetto della combinazione del sale colle sostanze albuminoidi cadeva forzatamente e si doveva riconoscere che la distruzione delle emazie non era dovuta ad ipotonia delle soluzioni.

Tanto della gomma poi come dell'albumina avevo avuto cura di determinare la reazione, che avevo constatato essere alcalina, e in grado assai vicino a quello del sangue per cui nemmeno a quella si potevano attribuire i fatti osservati per i due liquidi.

Eliminate così varie cause supponibili di quei fatti non mi restava che a pensare esse potessero consistere in proprietà speciali chimiche o fisiche delle sostanze viscose da me adoperate, per cui venni alle seguenti

Conclusioni.

La presenza di un corpo colloide, nonchè impedire i processi distruttivi derivanti dalla ipotonicità di una soluzione salina, li accelera e li esagera: li esagera tanto, che spesso si

vede formarsi un coagulo dovuto apparentemente alla fusione degli stromi semidistrutti. Questa azione dei corpi colloidi, gomma e albumina, non è dovuta ad un processo di associazione fra i sali e i corpi colloidei che conduca ad una depressione della molecolarità e quindi della tonicità delle soluzioni saline, e si deve perciò con molta verosimiglianza attribuire ad un'azione chimica distruttiva di queste sostanze sugli elementi morfologici del sangue. A meno che non si debba ammettere che un ambiente colloideo faciliti meglio di una semplice soluzione acquosa, quei processi in parte diffusivi che determinano il dissociarsi delle emazie.

RENDICONTI

DELLE

ADUNANZE DELL' ACCADEMIA MEDICO-FISICA FIORENTINA

Resoconto sommario delle sedute.

Adunanza pubblica del dì 14 Gennaio 1903.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: BADUEL, CHIARUGI, COLZI, DADDI, FAIRMAN, FLORA, GUIDI, LIVINI, LUISADA, NESTI G., PICCHI, PIERACCINI, PROSPERI, RADAELI, STORI.

Livini F. — *La doccia ipobranchiale nei vertebrati: anfibii anuri.*

Conclusioni:

Negli embrioni di *Bufo vulgaris*, in precoci stadî dello sviluppo (generalmente fra i 3 ed i 6 mill. di lunghezza totale), esiste una doccia longitudinale, situata sulla linea di mezzo della parete ventrale della faringe. Normalmente essa si estende dal limite posteriore della membrana faringea fino circa a livello della 2ª tasca entodermica branchiale; per variazione può estendersi, in dietro, fin verso il limite posteriore della regione branchiale. La sua forma è assai varia nei diversi individui. Dapprima essa, nel suo tratto caudale, entra in rapporto coll'ectoderma; tale rapporto persiste però per breve tempo e prestissimo si perde. La doccia è rivestita da un epitelio differenziato nel senso che ha uno spessore maggiore di quello che riveste la parte vicina della parete ventrale della faringe. Tale differenziamento dell'epitelio è chiaramente apprezzabile soltanto quando la doccia è ben sviluppata.

Questa doccia permane per breve tempo; rapidamente va incontro d un processo di involuzione e scompare. Al posto da essa occupato sta un ispessimento epiteliale, che però sparisce, esso pure, ben presto.

La doccia in questione rappresenta, in forma rudimentale, la doccia ipobranchiale dell'*Amphioxus* e dei Tunicati.

Appena la doccia è comparsa, talvolta quando non è ancora completamente delineata, al suo estremo caudale si costituisce un ispessimento epiteliale che è l'abbozzo della tiroide, abbozzo che, allorquando è meglio sviluppato, apparisce come una appendice dell'estremo caudale della doccia medesima.

Nei primi momenti, l'abbozzo tiroideo, come avviene per il tratto caudale della doccia, entra in intimo rapporto coll'ectoderma. Tale rapporto però si perde prestissimo.

Normalmente l'abbozzo tiroideo è sotto forma di gemma solida, e come tale si separa dalla matrice; eccezionalmente, quando la doccia si estende in dietro più della norma, la cavità della doccia si può prolungare nell'interno di esso abbozzo, che assume allora la forma di un diverticolo cavo.

Questi reperti ci autorizzano ad affermare con sicurezza che anche in *Bufo*, come ho dimostrato nel Pollo, la tiroide non è l'equivalente morfologico della doccia ipobranchiale dell'*Amphioxus* e dei Tunicati.

(Alla comunicazione segue la dimostrazione dei preparati relativi).

Lensi Dott. L. — *Sopra due casi di fistole congenite mediane del collo.* (Non fu consegnato il manoscritto).

Chiarugi. Trova giudiziose le considerazioni svolte dal dott. Lensi a proposito dei suoi casi clinici. Fa rilevare come non sempre i fatti teratologici siano così semplici da poter esser spiegati coi dati della embriologia normale. Occorre tener conto nella spiegazione di questi fatti di vari momenti i quali possono complicare e modificare notevolmente lo sviluppo normale.

Il Vice-Segretario degli Atti
F. RADAELI.

Adunanza pubblica del dì 22 Gennaio 1903.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: BANTI, CACCIA, CAPEI M., CELONI, CHIARUGI, COLZI, DADDI, FAIRMAN, FLORA, GIUNTOLI, GUIDI, LEVI, LIVINI, LUSTIG, NESTI G., MARCACCI, ORLANDINI, RADAELI, SALAGHI, TIBERTI.

Prof. Fano e Dott. Enriquez. — *Sui composti salino proteici.* (Non fu consegnato il manoscritto).

Segue una breve discussione alla quale prendono parte i soci **Flo Banti, Fairman, Fano.**

Il Vice-Segretario degli Atti
F. RADAELI.

Adunanza pubblica del dì 29 Gennaio 1903.

Presiede il Dott. G. BESSONE, *Vice-Presidente.*

Sono presenti i Soci: BADUEL, BANCHI, DADDI, GIUNTOLI, LEVI, LIVINI, ORLANDINI, PICCHI, RADAELI, STORI, TIBERTI, TOTI.

Tiberti N. — *Sul potere immunizzante del nucleo-proteide estratto dal bacillo del carbonchio ematico.*

L'A. ha voluto vedere anzitutto se era possibile isolare il nucleo-proteide del bacillo del carbonchio ematico; secondariamente si è proposto di studiare le proprietà immunizzanti di questa sostanza sugli animali da esperimento.

Per isolare il nucleo-proteide del bacillo del carbonchio egli si servì dello stesso metodo adoperato da *Lustig* e *Galeotti* per preparare il nucleo-proteide del bacillo pestigeno. Il metodo consiste nel disseminare il bacillo del carbonchio in agar, in larghe scatole di vetro. Le culture si possono lasciar soggiornare nel termostato a 37° per 24 ore, oppure nel termostato a 20 per 4-5 giorni. Occorre servirsi di culture asporigene o almeno di culture che contengono uno scarso numero di spore. Se le spore sono molto abbondanti conviene rinunciare alla preparazione del nucleo-proteide. Quando le culture sono molto rigogliose, si raccoglie il materiale bacterico con una spatola di corno sterile e si discioglie in una soluzione al 2-3 % di potassa caustica. Si lasciano i microrganismi a contatto colla potassa per 24-48 ore e si agita il liquido 3-4 volte al giorno con una spatola sterile. Aggiungendo a questo liquido una soluzione di acido acetico all' 1 % si ottiene un precipitato fioccoso che ha le stesse reazioni dei nucleoproteidi. Si raccoglie questo precipitato su di un filtro di carta bibula sterilizzato, si lava ripetutamente con acqua distillata sterile e raccoltolo con una spatola, lo si discioglie in una soluzione al 2 % di carbonato sodico. Si ottiene così un liquido di aspetto opalino che contiene, disciolto, il nucleo-proteide del bacillo del carbonchio ematico.

Per dosare la quantità di sostanza attiva contenuta in una determinata quantità di soluzione di carbonato sodico si fanno evaporare a bagno maria 10 cc. di liquido; si essicca il residuo in un essiccatore ad H_2SO_4; si fa una prima pesata alla bilancia di precisione; si incenerisce e si pesa di nuovo: la differenza fra la 1ª e la 2ª pesata rappresenta la quantità di nucleo-proteide disciolta in 10 cc. di soluzione.

Occorre sempre filtrare attraverso la candela di *Chamberland.*

L'A. ha sperimentato con dosi variabili di nucleo-proteide; ha cominciato da piccole dosi (6 mmgr.) ed è salito a dosi maggiori (22 mmgr. per volta). Per animali da esperimento ha scelti i conigli. Il liquido era sempre inoculato per via ipodermica e gli animali reagivano con febbre alle iniezioni. Queste venivano praticate a diverso intervallo di tempo e sempre quando era cessata ogni reazione della iniezione precedente.

Di 12 conigli inoculati con dosi variabili di nucleo-proteide e successivamente infettati con culture virulente di carbonchio 8 sopravvissero, quattro morirono; i conigli controllo infettati colle medesime culture morirono regolarmente. Dei quattro conigli vaccinati col nucleo-proteide del carbonchio e successivamente infettati morirono due dopo 8 giorni, uno dopo 5 giorni, uno dopo quattro. I relativi controlli morirono in 3 giorni dalla inoculazione di culture virulente di carbonchio.

L'A. conclude essere possibile estrarre per via chimica dal bacillo del carbonchio una sostanza che presenta le stesse reazioni dei nucleo-proteidi bacterici, sostanza che inoculata in piccole dosi nei conigli è capace nel maggior numero di casi di conferire a questi animali una immunità attiva contro l'infezione carbonchiosa e di ritardare in altri l'esito letale di fronte ai conigli controllo.

Altre esperienze dello stesso A. sono dirette ad indagare il meccanismo col quale questa immunità si verifica negli animali da laboratorio e a stabilire il massimo periodo di durata di questa immunità.

Il Vice-Segretario degli Atti
F. Radaeli.

Adunanza pubblica del dì 12 Febbraio 1903.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Banchi, Bessone, Bufalini, Caccia, Chiarugi, Comba, Fairman, Flora, Giuntoli, Guidi, Levi, Livini, Lustig, Mya, Orefici, Pieraccini, Radaeli, Stori, Tiberti.

G. Pieraccini. — *Valore diagnostico della febbre nella gastrorragia da ulcera rotonda.*

La gastrorragia che colpisce il sofferente di ulcera di stomaco è accompagnata da un periodo di febbre che, secondo l'O., non manca mai quando la emorragia è di una certa entità. È una febbre a tipo continuo con remissioni mattutine, che può oscillare fra 37,5 e 38 e 38°,5 C; che si protrae per 5-7-8 giorni e cade poi per lisi. Nei giorni successivi si ha qualche modico, erratico rialzo termico. Di queste

bre l'O. ha studiato i particolari, in rapporto alle condizioni di anemia post-gastrorragica, in due malate, mentre la constatazione generica di febbre e gastrorragia ha esteso ad un discreto numero di casi. Egli può affermare una certa relazione fra intensità della febbre e quantitativo della emorragia.

Fatto eccezione di Ewald e Strumpell, nessuno degli AA. più noti parla della febbre nella gastrorragia; ma anche i due citati AA. appena ne trattano incidentalmente. Ordinariamente si ammette che la febbre in questi ammalati che hanno avuto ematemesi, sia espressione di una qualche complicanza, come di una peritonite peri-ulcerosa, ecc. Ma l'O. non intende qui riferirsi a questa febbre secondaria a complicanze, ma sibbene ad una febbre che decorre a sè, quale espressione dell'anemia acuta post-gastrorragica, e che potrebbe mettersi in rapporto con una iperattività degli organi ematopoietici. Con tutta probabilità però contribuisce alla febbre (almeno nel primissimo periodo cioè fino a tanto che si trova urobilina nelle orine) anche il riassorbimento di parte del sangue stravasato nel tubo gastro-enterico. L'O. trova argomenti a questa tesi nei seguenti fatti:

Che l'ulcera rotonda è conseguenza non di una flogosi ma di un processo distrofico, e che l'emorragia non può modificare, nè modifica difatti, la zona di tessuto ulcerato. Dalla superficie ulcerata non parrebbe dunque che la febbre dovesse trarre la sua origine.

Che la formula ematica nel gastrorragico per ulcera non offre vera e propria leucocitosi (come dovrebbe accadere se si trattasse di febbre legata a processo flogistico), e che si ha diminuzione dei polinucleati e notevole aumento dei linfociti.

Che la febbre post-gastrorragica si ha dopo circa 24-48 ore dalla ematemesi e si protrae per 5-8 giorni, vale a dire fino a tanto che l'anemia acuta non si è in parte corretta. Essa cade per lisi.

Che vi ha certamente un qualche rapporto fra intensità della febbre e abbondanza della emorragia.

Che finalmente non manca l'appoggio dello esperimento alla ipotesi di una febbre anemica. È infatti noto che allorquando ad un animale si cava sangue, l'animale febbricita (Stricker).

L'O. dalle sue precedenti considerazioni ed astraendo da ogni concezione teorica sulla genesi ed interpretazione della febbre post-gastrorragica, crede potere affermare che questa febbre non ha valore prognostico assoluto di gravità per la vita del paziente. Di più il fatto dall'O. notato, può essere elevato a segno di diagnosi differenziale, inquantochè nella gastrorragia nervosa e nella cancerosa manca sempre la reazione febbrile. La gastrorragia nervosa è infatti quasi sempre modica e facilmente contenibile nei limiti compensatori fisiologici.

Nel canceroso, dopo una ematemesi si può avere febbre, ma questo accade solamente *sub finem vitae;* in generale il canceroso non febbricita

anche se l'emorragia è copiosa, perchè l'intossicazione cancerosa ben presto altera e scompagina e indebolisce tutti quanti i visceri e le relative funzioni organiche, e quindi anche gli organi ematopoietici non possono entrare in quella fase d'iperattività funzionale a cui l'O. crede appunto si possa riferire le febbre anemica.

Mya. Ritiene che si possa ventilare qualche altra ipotesi, oltre quella enunciata dal Dott. Pieraccini, per spiegare la febbre nella gastrorragia da ulcera rotonda. In questo caso abbiamo nelle vie digerenti un versamento di sangue, che subisce delle trasformazioni per effetto delle quali si può supporre che si producano delle sostanze pirogone, che entrate in circolo produrrebbero la febbre. L'assorbimento di queste sostanze pirogene durerebbe più a lungo che quello dei pigmenti e ciò renderebbe conto del fatto osservato dal Pieraccini che la febbre continua ancora dopo la scomparsa dell'urobilina dall'orina. Una seconda ipotesi sarebbe la seguente: il sangue versandosi nell'intestino, potrebbe provocare delle modificazioni tali nelle condizioni della flora batterica intestinale, da produrre la febbre. Una terza ipotesi da tenere presente è poi quella secondo la quale come effetto di abbondanti perdite di sangue si avrebbe un perturbamento dei centri termoregolatori del sistema nervoso e quindi una ipertermia.

Sarebbe necessario verificare se dei rialzi termici si osservano pure in perdite sanguigne da altri organi.

Fano. Conviene col Prof. Mya che si possono ventilare altre ipotesi per la spiegazione della febbre nella gastrorragia da ulcera rotonda. È probabile che a modificare la flora intestinale debba influire la reazione alcalina del sangue che in gran copia si versa nelle vie digerenti. Sappiamo poi da numerose ricerche quanta influenza ha l'anemia sulla funzione dei centri nervosi bulbari e si potrebbe ricercare anche in questa perturbazione funzionale dei centri termoregolatori la causa della febbre. Non si spiega perchè la iperattività dei centri ematopoietici possa produrre, come vorrebbe il Pieraccini, una elevazione termica, poichè per effetto di questa iperattività abbiamo una neoformazione di elementi cellulari, la quale piuttosto che una elevazione termica produrrebbe una ritenzione di calore.

Lustig. Ricorda gli esperimenti dello Stricker citati dal Pieraccini, ma non gli pare che l'A. parli di stato febbrile, ma di ipertermia, la quale non è sinonimo di febbre. Ora nei casi osservati dal Pieraccini si potrebbe benissimo avere avuto una ipertermia afebbrile.

Fairman. Nella pratica ginecologica si osservano delle copiose emorragie, non accompagnate da febbre. Siccome anche in questi casi si deve ammettere una iperattività riparatrice degli organi ematopoietici, egli non crede che l'ipotesi del Dott. Pieraccini possa dare una spiegazione soddisfacente della febbre nelle gastrorragie da ulcera rotonda.

Giuntoli. In base alle osservazioni del Pieraccini egli si domanda se

la cosidetta febbre da latte non sia dovuta a metrorragie avvenute durante il parto.

Pieraccini. Risponde che ove dovessimo accettare le ipotesi avanzate dal Prof. Mya ne conseguirebbe che si dovrebbe avere la febbre anche in casi di gastrorragia da cancro ulcerato. Ora l'O. ha osservato che la febbre manca in casi di gastrorragia cancerosa anche se si tratta di individui relativamente giovani ed ancora in buone condizioni di nutrizione generale. Appunto perchè, dice l'O., difetta nell'organismo canceroso, sempre più o meno intossicato e depresso nelle sue capacità vitali, il modo di reagire con una pronta iperattività degli organi ematopoietici.

Che se poi si volesse accettare la ipotesi Mya-Fano, cioè di una perturbazione dei centri termoregolatori quale causale della febbre, l'O. fa osservare che vale anche per questa ipotesi l'obiezione ora riferita e che cioè manca la febbre nél canceroso. Di più si può dire che i fenomeni post-anemici d'origine nervosa (convulsioni, paralisi, ecc.), susseguono immediatamente alla anemia e sono transitorii, mentre la febbre post-gastrorragica è fenomeno più tardivo e persistente. Quindi non ha i caratteri e l'andamento dei comuni fenomeni nervosi da anemia acuta.

La superattività dei centri ematopoietici spiegherebbe la febbre, secondo l'O., per il fatto di una sovrabbondanza di materiali metabolici tumultuosamente versati in circolo.

Circa agli esperimenti dello Stricker, l'O. crede che l'autore tedesco abbia inteso parlare di vera e propria febbre.

Si domanda poi: perchè nelle emorragie uterine da fibroma, nelle metrorragie, ecc., il paziente non febbricita? Una pregiudiziale vorrebbe si chiedesse se realmente ricerche termiche in tali casi sono state regolarmente praticate; ma in ogni modo si può sempre rispondere che certe perdite sanguigne (fibromi uterini, menorragie, ecc.) ripetendosi con una certa frequenza, finiscono col dare una stimolazione cronica, e quindi col creare una specie di assuefazione degli organi ematopoietici ad una temperata iperfunzione. Talchè alla fine con questo meccanismo viene messo l'organismo in condizioni di non reagire più troppo violentemente, cioè con la febbre, neppure ad emorragie copiose.

E poi quante puerpere non febbricitano senza che fino ad oggi si sia trovato la ragione precisa di questa febbre? E cosa è la febbre del latte, cui ha accennato il Dott. Giuntoli? Non potrebbe darsi che questa febbre fosse espressione di anemia acuta?

Del resto nessuno pretenderà che una ipotesi valga a spiegare tutti i fatti che con quello che io ho preso ad illustrare hanno solo dell'anemia. Io, ripeto, non tengo alla ipotesi, ma all'osservazione clinica che febbre è fedele compagna della gastrorragia da ulcera rotonda, e che fatto può essere elevato al grado di sintoma.

G. Polverini. — *Sopra un caso di filaria medinensis.*

L'O. descrive un caso di *filaria medinensis* da lui osservato in Bombay (India) e presenta anche il verme.

Il caso era importante perchè manifestatosi in un individuo convalescente di peste, per cui l'ascesso cutaneo prodotto dalla filaria era di difficile diagnosi potendosi sospettare o un bubbone da recidiva di peste, oppure un ascesso di altra natura.

L'O. dopo aver insistito sul metodo usato per l'estrazione del verme passa a fare delle considerazioni d'indole generale specialmente sul modo come l'infezione può avvenire sull'uomo, e dopo aver esposto ciò che fino ad oggi si sa su questo argomento enuncia l'ipotesi che la zanzara o qualche altro animale ematofago possono essere uno dei mezzi con cui la malattia viene trasmessa all'uomo, anche per analogia con quanto è stato ultimamente dimostrato da *Low* per la *filaria sanguinis hominis.*

Lustig. Domanda se furono fatte ricerche batteriologiche sul liquido giallognolo che circondava la filaria.

Polverini. Non fece culture: ma l'esame microscopico del liquido non rivelò la esistenza di alcun microrganismo.

Il Segretario degli Atti
C. Comba.

Adunanza pubblica del dì 19 Febbraio 1903.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Bessone, Burci, Caccia, Celoni, Comba, Flora, Giuntoli, Livini, Orlandini, Pestalozza, Stori, Toti.

T. Stori. — *Sopra un caso di lipoma voluminoso del funicolo.* (Non è stato consegnato il manoscritto).

O. Marchetti ed **E. Filippi.** — *Sul potere di ossidazione dei tumori.* (Non è stato consegnato il manoscritto).

Pestalozza. Fa rilevare l'accordo che esiste fra i risultati delle ricerche dei dottori Marchetti e Filippi e quelli del dott. Bidone sul potere d'ossidazione dei tessuti fetali.

Dott. A. Orlandini. — *Un sequestro di tutta l'apofisi mastoide e* [illegible] *condotto osseo in una bambina di 2 anni.*

La malata affetta da otite media da oltre sette mesi ebbe una r[illegible] cutizzazione 15 giorni circa prima che si presentasse all'ambulatorio

retto dal professore Toti. Pare che tale riacutizzazione si dovesse alla influenza.

Negli ultimi dieci giorni raccontava la madre che la bambina era presa da febbre piuttosto alta alla sera e le ultime cinque o sei notti non aveva potuto riposare.

Da tre giorni era apparsa nella regione retroauricolare destra una tumefazione, coperta da pelle arrossata, dolente spontaneamente e fluttuante. La notte avanti che fosse portata al nostro ambulatorio era stata in uno stato comatoso, si era aggiunta una spiccata paralisi del VII. Noi pure la trovammo in tali condizioni. Consigliata la madre a lasciar la malata all'ospedale l'operammo d'urgenza la sera stessa.

Il prof. Toti col taglio del Wilde, diede esito a grande quantità di pus fetidissimo che occupava una vasta saccoccia fatta dalle parti molli della regione in parola. Nel fondo di detta sacca si vede completamente isolato il sequestro che l'autore presenta.

Per quanto non sia il momento di discutere riguardo all'etiologia di tale fatto l'Autore osserva che tanto nella bambina in parola quanto nei genitori; per dati anamnestici fortuiti da questi si può escludere qualunque partecipazione a tale necrosi della sifilide e della tubercolosi.

Il Segretario degli Atti
C. Comba.

Adunanza pubblica del dì 5 Marzo 1903.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Banchi, Banti, Baduel, Bessone, Bufalini, Celoni, Caccia, Capei M., Comba, Daccò, Flora, Marcacci, Pacchioni, Picchi, Orefici, Orlandini, Pestalozza, Levi, Tiberti.

Prof. U. Flora. — *Sul precipitato acetico di alcune orine.*

Acidificando l'urina in condizioni abituali non si ha nessun fenomeno apparente speciale. Nelle orine concentrate può verificarsi un intorbidamento per precipitazione degli urati (che si sciolgono a caldo) o per formazione di cristalli d'acido urico riconoscibili dal colore, dalla forma cristallina, ecc.

V'è un certo numero di orine che coll'acidificazione danno a freddo un altro tipo di precipitato, fisicamente simile a quello che si può avere a caldo per la presenza di albumina. Esso talvolta può essere molto ab-

bondante quanto quello per es. che si ha coll'uno o col due per mille di albumina.

È abbastanza ovvio riscontrare questo fatto nelle orine itteriche ma non in tutte, nè in proporzione col loro contenuto in pigmenti biliari ma preferibilmente colla gravità della malattia fondamentale.

Ne ho notato la presenza in casi di cancro del fegato o della testa del pancreas con occlusione del coledoco; in caso di calcolosi e di angiocolite, di atrofia giallo-acuta ecc. Però l'ho veduta pure abbondantissima, anche più che in queste orine itteriche, in orine di malati di gravi forme infettive: per es. in qualche caso di polmonite (eravi insieme forte urobilinuria) in un caso di febbre maltese, in due casi di emoglobinuria ecc.

Con relativa costanza in tutti questi casi appariva evidente la lesione renale per la presenza di una cospicua quantità di cilindri granulosi od epiteliari e di cellule renali: spesso trattavasi di vere e proprie cilindrurie o di intense desquamazioni renali.

È pur degno di nota che in tutte queste orine, tolta la sostanza precipitata a freddo coll'acidificazione, non si trovava più o quasi traccia d'albumina colle solite reazioni che ne caratterizzano la presenza, per lo meno il fatto è stato eccezionale: se l'albumina si faceva molto abbondante, diminuiva il precipitato di cui mi occupo, per ricomparire col diminuire dell'albumina.

Devo pur notare che trattavasi sempre d'orine ricchissime di pigmenti (pigmenti biliari, urobilina, emoglobina, o per meglio dire metaemoglobina, perchè nei due casi cui ho accennato come di emoglobinuria, avevasi invece solo metaemoglobina).

La quantità di questo precipitato varia:

Itteri catarrali	fino al	0,58	‰
Cancro testa pancreas	»	0,56	»
Calcolosi	»	0,35	»
Cancro epatico	»	0,90	»
Atrofia g. acuta	»	0,10	»
Cirrosi	»	0,15	»
Angiocolite gonococcica	»	1,32	»
Emoglobinuria	»	1,50	»
Febbre maltese	»	1,20	»

I reattivi, coi quali si può mettere in evidenza questo precipitato sono svariati, ma non tutti egualmente adattati, nè sempre portano allo stesso risultato. Parlando di precipitato acetico sono improprio, così qualificato riferendomi a questa reazione come la più nota: il cipitato si ha cogli stessi caratteri ed anche in copia maggiore moltissimi acidi minerali ed organici: l'acido solforico rappresenta

timo precipitante: l'acido picrico e l'acido fenico sono i meno attivi, anzi quasi sempre del tutto inattivi.

Il precipitato si scioglie prontamente in alcali leggerissimo: la scarsezza di sali facilita, la dissoluzione. L'acido acetico in eccesso, scioglie il precipitato: così gli acidi minerali, l'acido solforico meno degli altri. Saturando con sali neutri si ha precipitazione, specie con solfati d'ammonio e di magnesia. Egualmente coi sali metallici.

Alcune particolarità vanno pure rammentate che praticamente ho potuto constatare nella ricerca di questa sostanza. Sembra che essa filtri assai male.

Esempio: in un'orina filtrata due volte per carta ottengo p. pesata 0,32 di precip. $^{o}/_{oo}$, filtrando per lana di vetro, 0,63 $^{o}/_{oo}$, decantando l'orina in modo da averla limpida ottengo 0,72 $^{o}/_{oo}$.

Colla dialisi si separa abbastanza bene, non precipita, ma se ne ottiene pochissima se la dialisi dura a lungo.

Speciale è il comportamento di fronte al calore: molte orine che danno anche abbondante precipitato a freddo cogli acidi, riscaldate rapidamente a 100° s'intorbitano appena, tanto da potersi per esempio escludere che contengano albumina colla solita prova del riscaldamento previa leggera acidificazione con acido acetico. Invece il precipitato si fa quasi istantaneamente se si acidifica l'orina mantenendola intorno a 40°. Riscaldando anche a lungo l'orina questa non perde la proprietà di dare il precipitato cogli acidi.

Concentrandola per mezzo dell'evaporazione il precipitato che se ne ottiene è proporzionatamente maggiore.

Da quel poco che son venuto esponendo s'intende che parecchie reazioni sono comuni coll'albumina e *Grocco* fin da molti anni fà ricordava questa speciale causa d'errore dimostrando la facilità di cadere in abbaglio ed indicando un metodo per determinare l'albumina indipendentemente dalla presenza della sostanza in questione. Come alcuni di Loro ricorderanno questo metodo consisterebbe nell'eseguire la ricerca dell'albumina nell'orina dopo che dalla stessa è stato sottratto il precipitato acetico.

In base alle mie ricerche posso aggiungere che invece di attendere le 24 ore, si può dimostrare se c'è o meno questo precipitato quasi istantaneamente acidificando l'orina 40°, ed usando a preferenza l'acido solforico. Un buon indice per dire se o meno si tratti di albumina genuina lo si può avere anche a seconda che cogli acidi picrico e fenico si ottiene o meno un precipitato. Ricordo inoltre la pronta precipitazione con SO_4 e la prova di *Heller* che non riesce coi caratteri come nell'orina uminosa.

Consiglierei specialmente l'acidificazione con acido solforico a + 40° che perchè con varie delle reazioni dell'albumina vera, la sostanza in stione può non rivelarsi affatto, mentre non di rado può essere im-

portante metterla in evidenza. (Acidificazione e riscaldamento, riscaldamento semplice, riscaldamento ed acido nitrico, ecc.).

Quale importanza può avere questo precipitato delle orine?

Ho già accennato le circostanze nelle quali occorre verificarlo: si tratta generalmente di itterizie assai gravi, o di altre affezioni pur gravi nelle quali la presenza di speciali pigmenti, urobilina e pigmento ematico, indicano una abbondante distruzione corpuscolare: s'aggiunga la pressochè costante e profonda lesione renale rilevabile dalla presenza di grandi quantità di elementi formati dal rene stesso.

Questo il dato empirico; dalla natura chimica del precipitato si dovrebbe indurre il resto.

Fin da oltre 40 anni fa si conosceva la possibilità di avere un precipitato nelle orine coll'acido acetico: lo si credette per molto tempo dovuto a *mucina*, in base a studi posteriori si rilevarono certe particolarità per le quali si credette che la sostanza in questione, pur avendo molte somiglianze colla mucina non potette identificarsi colla medesima, e per questo la si chiamò similmucina ed anche sostanza mucinoide; anche recentemente (l'anno scorso) un A. la chiamava sieromucina. La si elevò di grado passandola al gruppo degli albuminoidi ed ascrivendola alle albumine (paralbumina), alle globuline, ed infine, più recentemente si era concordi nel ritenerla nucleo albumina. Gli studi ultimi di *Mörner* avrebbero orientato in altro senso; secondo quest'A. in tutte le orine (anche normali) esisterebbero delle sostanze che in presenza di un acido (acido acetico) farebbero precipitare l'albumina: queste sostanze sono gli acidi nucleinico, condroitinico e taurocolico. La presenza di quest'ultimo in grande quantità nelle orine itteriche renderebbe ragione del precipitato che così frequentemente si ha in esse, coll'aggiunta dell'acido acetico. *Vitali*, parecchi anni prima, aveva del resto emessa analoga opinione ed anzi si era valso dell'affinità che hanno gli acidi biliari per l'albumina per fondare un metodo per la loro ricerca.

Parecchi altri AA. anche in quest'anno tornano sulla questione e non sono concordi.

Per mio conto ho pure fatto qualche ricerca limitandomi alle orine itteriche dalle quali soltanto ho potuto avere delle quantità di sostanza sufficienti per alcune analisi principali.

Senza entrare in particolari, dirò che il precipitato che si ottiene cogli acidi dalle orine itteriche risulta:

1. di pigmenti biliari (più bilirubina che biliverdina), per forse più di $^1/_3$,
2. di acidi biliari,
3. di una sostanza proteica contenente carbonio H, O, N, S, e in un rapporto che si avvicina a quelle degli albuminoidi.

4. di un'altra sostanza eminentemente tossica che sembra legata a quella proteica, atta a produrre, quando sia iniettata, una nefrite particolarmente intensa con comparsa nelle orine di una sostanza precipitabile con gli acidi e precipitabile anche spontaneamente.

Praticamente si può dare un valore a questo precipitato o si deve considerarlo come una semplice particolarità da ricordarsi per non cadere in errore quando si ricerca l'albumina?

Visto che fra i suoi componenti si contiene una sostanza che per lo meno molto si avvicina, se non è eguale alla albumine, e vista la costanza colla quale si accompagna alla presenza di elementi formati del rene, bisognerà per lo meno darle un'importanza simile a quella delle ordinarie albuminurie.

Non parlo del valore che si può dare ai pigmenti che in altri modi sono dimostrabili.

La prova biologica e le analisi indicano invece l'esistenza di quell'altre sostanze assai tossiche: è forse per questo lato che il precipitato acetico merita considerazione, specialmente quando le ricerche siano estese a vari gruppi di malattie.

In base alla pratica fatta, credo però che il metodo dovrebbe essere modificato. Colla semplice acidificazione si ottiene un precipitato che contiene certamente gran parte della sostanza albuminosa, ma bene spesso lascia altre sostanze che coll'aggiunta di un'ordinaria albumina danno un nuovo precipitato cogli acidi. Per cui può darsi, e ciò si verifica di fatto, che in molte orine il precipitato si abbia solo quando si aggiunge artificialmente dell'albumina.

È forse su questa strada che si potrà concludere qualcosa di più preciso.

Il prof. **Banti** domanda alcuni schiarimenti che vengono dati dal prof. **Flora**.

Il Segretario degli Atti
C. Comba.

Adunanza pubblica del dì 12 Marzo 1903.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Banchi, Banti, Capei M., Chiarugi, Fairman, Giuntoli, Guidi, Levi, Livini, Lustig, Mya, Radaeli, Rossi, Pellizzari.

Banchi A. — *Le variazioni delle « a. coronariae cordis » e la morfologia, di questi vasi.*

L'O. comunica i resultati del suo studio condotto col metodo statistico. Dopo aver accennato rapidamente alla conoscenza imperfetta che

gli Autori e trattatisti dimostrarono fiffora di possedere su questo argomento; dopo aver rilevato come grossolani errori, quali ad esempio quello del *circolo continuo coronario e longitudinale* per inosculazione dei tronchi principali delle due a.a., si sono perpetuati nonostante le proteste di singoli ricercatori; l'O. dimostra come le *a.a. coronariae cordis* costituiscano un sistema di vasi arteriosi, assai complesso, ben determinabile, e che deve essere descritto in modo alquanto differente, e molto più esteso che non si sia fatto fino ad oggi. Intorno ai resultati particolari della fatta ricerca l'O. non si trattiene a lungo, limitandosi alle predette affermazioni che suffraga colla presentazione di numerosi schemi e curve grafiche. L'O. insiste però nello esporre assai partitamente il metodo seguito nello studio e che è il metodo statistico e l'applicazione di questo metodo cioè la maniera di svolgere le singole operazioni. Per via di esempi l'O. mostra come si proceda: 1° alla composizione dello schema o questionario che serve di guida nelle singole esservazioni. 2° Alla osservazione dei casi. 3° Allo spoglio delle schede raccolte ed alla formazione di tabelle riassuntive. 4° Alla trasformazione di queste tabelle in curve grafiche. L'O. esponendo la via seguita e la meta raggiunta, dimostra come il metodo presenti una garanzia straordinaria di matematica precisione ed elimini quasi ogni causa di errore e permetta di verificare e riparare prontamente, anche dopo molto tempo che fu commesso, ad ogni errore eventuale, purchè questo non porti sulla osservazione direttamente, ma, come è più facile che avvenga, sulle successive e complicate operazioni di spoglio e ordinamento dei dati raccolti.

Le grafiche costruite possono poi essere confrontate e sottoposte, occorrendo, a reciproche somme e sottrazioni, senza che a questo confronto matematico si opponga la natura diversa dei caratteri cui esse si riferiscono.

L'O. dimostra che il metodo seguito, e già da tempo applicato anche per opera dei Colleghi sotto la direzione del Maestro nell'Istituto Anatomico di Firenze, determina l'aggruppamento naturale delle variazioni dell'organo studiato, in modo che automaticamente apparisce: 1° quale sia il tipo più frequente, o normale, dell'organo; 2° come si svolga il fenomeno variazione nell'organo stesso. Si risolve cioè innanzi tutto il problema morfologico relativo all'organo in sè, e poi si prepara la via alla soluzione di un problema più generale e interessante, che è quello del *perchè delle variazioni*. Oggi è perfettamente inutile sapere che la variazione di un organo è un fatto che può essere, e come può comparire il fenomeno in momenti singoli; occorre invece ricercare come è si svolge il fenomeno tutto quanto; infatti è logico credere che noi tremo scoprire il perchè del fenomeno variazione soltanto quando s ben conosciuto come questo fenomeno si svolge; e questa conosce del *come* portano e portarono nei singoli campi studiati in questo

tuto i resultati delle fatte ricerche. Quando altri molti e più estesi studî, in altri organi e altri sistemi e soprattutto in molte differenti specie saranno stati condotti con egual metodo, allora è da sperare che sarà raggiunta anche la conoscenza del *perchè* della variazione.

Il Presidente prof. **Fano** domanda se forse non potrebbe servire per questo metodo di ricerca l'uso della fotografia composta.

L'O. risponde che verisimilmente l'impiego della fotografia all'atto pratico riescirebbe nel caso attuale molto difficile e forse impossibile spiegando il perchè del suo giudizio con ragioni tecniche.

Il prof. **Banti** crede che la fotografia composta, se applicabile, darebbe solo il resultato sintetico della ricerca e non permetterebbe l'analisi come fa il metodo svolto dall'O. Il prof. Banti domanda se in queste ricerche l'O. ha studiata la questione dell'essere le arterie muscolari del cuore terminali o meno.

L'O. risponde che questo quesito non fu posto, essendo necessaria per risolverlo una tecnica tutta speciale; l'argomento poi non rientra nel numero di quelli trattati in quelli ricerche.

Il prof. **Chiarugi** rileva come l'uso della fotografia composta sarebbe impossibile e non condurrebbe allo scopo proposto in questo genere di ricerche.

Il Vice-Segretario degli Atti
F. Radaelli.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile.*

Laboratorio d'Igiene della R. Università di Bologna
diretto dal prof. G. Sanarelli.

L'ANALISI QUANTITATIVA

NELLA DIAGNOSI BACTERIOLOGICA DELLE ACQUE

PER IL

DOTT. GUIDO Q. RUATA

assistente.

I vari metodi attualmente in uso per determinare quantitativamente il contenuto bacterico delle acque, sono ancora lontani dal fornire delle indicazioni precise, perchè le obiezioni che si possono muovere, caso per caso, ai risultati del conteggio dei germi finiscono per togliere il più delle volte ad essi gran parte del loro valore sintomatico.

Una prima obiezione viene più particolarmente rivolta al mezzo nutritivo in cui l'acqua da esaminare è seminata. La composizione della gelatina — che è il terreno generalmente prescelto — va soggetta a grandi variazioni dipendenti, oltre che dal clima e dalle stagioni, dal materiale e dal modo con cui si prepara, e dalla sua reazione.

Queste diverse condizioni influiscono in forte misura su lo sviluppo dei microbi.

Il *Reinsch* ha dimostrato come lo sviluppo dei germi idrici possa subire le più profonde modificazioni anche per quantità estremamente piccole di sostanze acide o basiche aggiunte alla gelatina: questa enorme sensibilità dei germi alla reazione del mezzo culturale consigliò allo stesso autore di ricorrere, nella p-)arazione della gelatina, ai dosamenti alcalimetrici più e 'i e minuziosi.

Tuttavia, anche seguendo tale metodo proposto dal *Reinsch*, n non avremo affatto risolta la questione, giacchè non sarà

mai possibile di ottenere un substrato nutritivo, per così dire, universale, la cui reazione influisca nell'identica maniera su lo sviluppo di tutte indistintamente le specie microbiche.

Inoltre la gelatina, causa la sua fusibilità, non si può esporre a delle temperature superiori a 20°–22°C: orbene, numerosi microrganismi, alcuni dei quali importantissimi, a tale temperatura non si sviluppano, onde vanno perduti per la numerazione; e con essi lo saranno pure le non poche specie per le quali la gelatina non è terreno adatto.

A prescindere da tutte le condizioni inerenti al *mezzo*, dopo quanto tempo si può esser sicuri che tutti i germi seminati in una piastra si sieno sviluppati?

Il *Miquel* ritiene che il periodo d'incubazione non debba esser minore di quindici giorni, e con lui concordano gli altri autori. Perciò un conteggio di colonie praticato prima di questo termine non sarebbe completo, perchè non comprenderebbe tutti i microrganismi che ulteriormente potrebbero svilupparsi.

Nella tabella qui riportata, il *Miquel* così suddivide la proporzione di sviluppo giornaliero per mille microbi, entro il detto periodo di quindici giorni, secondo l'esperienza derivata dalla sua lunghissima pratica:

DURATA D'INCUBAZIONE DEI GERMI IDRICI NELLA GELATINA.

Incubazione	*Colonie schiuse* °/oo	*Coefficente*
1 giorno	20	50.000
2 giorni	136	7.353
3 »	254	3.937
4 »	387	2.584
5 »	530	1.887
6 »	637	1.570
7 »	725	1.379
8 »	780	1.282
9 »	821	1.224
10 »	859	1.164
11 »	892	1.121
12 »	921	1.086
13 »	951	1.052
14 »	976	0.024
15 »	1000	1.000

Perciò, quando si debba arrestare il conteggio prima di detto termine, il *Miquel* consiglia — per raggiungere una cifra più vicina al vero — di moltiplicare il numero trovato per il coefficente che corrisponde al giorno in cui il conteggio è stato praticato.

Egualmente l'*Abba* sulle sue osservazioni ha compilato la seguente tavola, secondo la quale al numero delle colonie contate prima del quindicesimo giorno, si dovrebbe aggiungere:

dopo	1	giorno	di sviluppo	il 99	per 100
»	2	giorni	»	78	»
»	3	»	»	70	»
»	4	»	»	57	»
»	5	»	»	48	»
»	6	»	»	41	»
»	7	»	»	37	»
»	8	»	»	30	»
»	9	»	»	24	»
»	10	»	»	20	»
»	11	»	»	1[illegible]	»
»	12	»	»	7	»
»	13	»	»	5	»
»	14	»	»	2	»
»	15	»	»	0	»

Questi artifizi aritmetici sono suggeriti dal fatto che ben spesso il conteggio non si può effettuare al termine dei 15 giorni ritenuti necessari. I germi fluidificanti che si sviluppano sulla gelatina possono, invadendola più o meno largamente, rendere inattuabile ogni numerazione anche molto presto, ad esempio, dopo uno o due giorni. Un conteggio fatto in tali condizioni non può dare quindi che dei resultati incompleti, appena attenuati dall'impiego dei coefficenti di *Miquel* o di *Abba*, o di quelli che l'esperienza propria abbia consigliato.

È naturale che questo inconveniente si verifichi più facilmente con le acque molto ricche di microbi, onde è necessario che l'acqua in esame sia seminata in condizioni tali da impedire che un eccessivo numero di microrganismi ne ostacoli il conteggio.

Si raggiunge questo scopo frazionando l'acqua sia direttamente, sia per mezzo di diluizioni a titolo noto.

Ecco quanto scrive il *Miquel* al riguardo:

« La maggior parte delle acque naturali contenendo una « cifra di bacteri piuttosto elevata, ed in ogni caso variabi- « lissima, la prima difficoltà dell'analista è quella di sapere « a quale dose dovrà seminare il campione che ha ricevuto « per ottenere nei bordi o sulle piastre un numero conveniente « di casi d'alterazione o di colonie: se questa cifra è troppo « bassa, il fattore potrà risentire considerevolmente di una « seminagione fortuita; se è troppo elevato, si è veduto quali « cause d'errore in meno si possano produrre; sapere a quale « grado la diluizione debba essere portata è il primo problema « da risolvere.

« Le acque di sorgente, considerate come molto pure, « possono contenere da 1 a 100 microbi per centimetro cubo; « le acque di sorgente contaminate accidentalmente o periodi- « camente dalla pioggia che ha spazzato il suolo, da un corso « d'acqua fortemente inquinato, sono molto più impure; le « cifre di bacteri date da esse possono variare da 100 a 1000 « e andar talvolta fino a diverse migliaia. Le acque dei fiumi « hanno una ricchezza microbica variante generalmente da « 10,000 a 100,000. Le acque di fogna contengono una die- « cina di milioni di bacteri per lo stesso volume; infine, le « acque domestiche, sudicie e fetide, che stagnano nei fossi, « i liquidi dei pozzi neri fissi possono contenerne parecchie » centinaia di milioni per centimetro cubo.

« L'origine di un'acqua è una indicazione preziosa a « conoscersi fin da principio, perchè può evitare allo speri- « mentatore il perditempo di saggi preliminari. Ma spesso « questa indicazione può mancare: chi richiede l'analisi bac- « teriologica di un'acqua crede, talvolta, suo dovere di lasciar « ignorare all'analista la natura del liquido dato, senza dub- « bio perchè i resultati non possano esser influenzati da [illegible] « preconcette. Altri credono ancora, ed è assolutamente [illegible] « sto, che le idee preconcette debbano cedere il passo ai [illegible] « osservati, e per questo motivo attaccano ai recipienti [illegible]

« false etichette con indicazioni alterate. Esiste infine un' ul-
« tima categoria di persone che si divertono a complicare
« il lavoro già così arduo del bacteriologo, effettuando delle
« miscele di acque pure con acque impure, aggiungendo a
« delle acque di sorgente d' una magnifica limpidità qualche
« goccia d' un liquido putrefatto, evidentemente per aguzzare
« la sagacia dell' operatore, e forse anche per burlarsi gra-
« ziosamente di lui, se egli non iscopre queste contamina-
« zioni grossolane. Fortunatamente i processi bacteriologici
« sono oggi abbastanza sicuri per scoprire queste frodi; un
« micrografo novizio tutto al più potrebbe, se il campione
« gli è arrivato in buone condizioni, credere a un errore
« proprio o a una sterilizzazione incompleta dei mezzi im-
« piegati.

« Ciò non ostante, vi sono dei casi, relativamente assai
« frequenti, in cui le acque date in esame — io alludo a
« quelle che portano l'etichetta d'acque di pozzo e di cisterna
« — nulla dicono all'operatore che possa guidarlo utilmente.
« Un'acqua di pozzo tanto può mostrarsi pura come un'acqua
« di sorgente, quanto contenere un numero di bacteri come
« la più impura acqua di fiume o di canale ».

La necessità di frazionare l' acqua è ormai riconosciuta da tutti gli autori, ed all' uopo sono consigliati numerosi metodi: questi però si possono tutti raccogliere in due gruppi: 1) Metodi per frazionamento diretto; 2) Metodi per diluizione.

Secondo i vari *metodi per frazionamento diretto*, l' acqua viene seminata direttamente nella gelatina a frazioni di centimetro cubo; queste sono ottenute sia per mezzo di pipette graduate a $^1/_{10}$ o a $^1/_{20}$ di c. c. (*Petri*, *Fischer*); sia per mezzo di pipette o contagoccie che diano un numero noto di goccie per c. c., come le pipette di *Alvergniat*, a 50 goccie (*Besson*), le pipette capillari di *Gabritchewsky*, o le comuni pipette che diano goccie al c. c. (*Berlioz*, *Abel*), ecc.

È ovvio come con questi metodi non si possano ottenere delle frazioni di centimetro cubo ancor troppo grandi, specie se si tratti di esaminare delle acque anche mediocre-

mente ricche in microbi: inoltre il maneggio di così tenui quantità di liquido è tutt'altro che facile, e può indurre in gravi errori anche l'operatore più sperimentato.

L'uso del frazionamento dell'acqua a goccie, poi, è sconsigliabile, non solo perchè — come giustamente osserva l'*Abba* — cambiando pipette esse variano di volume, ma specialmente perchè le pipette, messe a sterilizzare dopo che sieno state accuratamente tarate, possono presentare delle cospicue alterazioni di calibro dovute al calore della sterilizzazione; ed il tararle di nuovo, prima dell'uso, complica singolarmente le operazioni ed aumenta la probabilità di inquinamenti accidentali.

I *metodi per diluizione* si presentano invece in condizioni di esattezza migliori.

Miquel e *G. Roux* hanno proposto di far ad essi precedere dei saggi preliminari, per riconoscere approssimativamente a quale diluzione si debba seminare l'acqua: ma questi saggi hanno l'inconveniente di ritardare l'analisi definitiva d'almeno 24 ore, durante le quali l'acqua va tenuta in ghiaccio. Ora, secondo gli studi di *Förster* e d'altri autori, esistono vari microbi capaci di svilupparsi anche a 0°, e il dover tener calcolo di questo accrescimento potrebbe alterare di non poco i resultati finali. È vero però che, secondo il *Miquel*, se alla temperatura di 0° un gran numero di specie può ancora moltiplicarsi, di contro, altre specie più fragili spariscono completamente; si stabilisce, effettivamente, una specie di equilibro fra nascite e morti.

Il *Miquel* fu il primo ad adottare il metodo delle diluizioni. Il suo procedimento primitivo consisteva essenzialmente nel diluire l'acqua in un gran numero di matracci di brodo: questo metodo presentava difficoltà non indifferenti, sia per la grande quantità di materiale necessario ad ogni analisi, sia per la pratica non comune richiesta per apprezzarne dovutamente i resultati; onde, ad onta che questi raggiungessero in mano del *Miquel* una grande precisione, il metodo non entrò mai nell'uso generale.

Oggi il *Miquel* ha sostituito un processo a diluizione — a

lui chiamato *procédé mixte* — ch' io riassumerò a preferenza di quelli proposti dagli altri autori, perchè di tutti il più pratico e il più completo.

Per mezzo di pipette da un centimetro cubo, sterilizzate, l'acqua, a seconda della presunta ricchezza in germi, viene diluita a 1:10, 1:50, 1:100 ecc., entro dei matracci a cappuccio di vetro smerigliato, o in boccette a fondo piatto, con tappo di cotone, in cui vengono sterilizzate delle quantità note di acqua distillata.

Le diluizioni a 1:10, 1:100, 1:400, 1:1000 si fanno direttamente portando 1 c. c. dell'acqua in esame, per mezzo d'una pipetta dello stesso volume, in 9, 99, 399, 999, c.c., di acqua sterilizzata. Una diluizione a titolo più elevato, per esempio ad 1:100,000, si effettua in 2 tempi: si fa una prima diluzione a 1:1000, nel modo ora indicato; poscia, con un'altra pipetta si porterà 1 cc. di questa diluizione in 99 c. c. di acqua sterile. Resta così evitato l'impiego di quantità troppo forti d'acqua sterilizzata; non è neanche consigliabile di adoperare delle quantità d'acqua da analizzare troppo piccole, come sarebbe quella di seminarne $^1/_{10}$ di c. c. in un litro d'acqua sterile, per ottenere una diluzione ad 1:10,000, poichè non sempre si è sicuri della esattezza della misura.

Così ottenute le diluizioni, da ciascuna di esse si prelevano 2 c. c. di liquido — con delle pipette di 2 c. c. graduate a $^1/_3$ di c. c. — e per ciascuna diluizione si semina una serie di 6 piastre in ragione di $^1/_3$ di c. c. per piastra.

Il punto delicato di questo metodo — dice il *Miquel* — sta nell'apprezzamento del titolo della diluzione. Le acque molto pure si semineranno o non diluite o a piccole diluizioni; se si analizzano delle acque già conosciute per una lunga pratica anteriore, la diluzione conveniente sarà presto apprezzata; ma se il campione è di natura sconosciuta, è indispensabile ricorrere a dei saggi preliminari, o, più semplicemente, f e delle diluizioni a titoli diversi.

Il metodo del *Miquel* sopprime adunque gli inconvenienti comuni agli altri — derivanti dalla eccessiva ricchezza di (rmi che rende difficile e spesso impossibile il conteggio, e

nel medesimo tempo dallo sviluppo di un numero tale di fondenti per il quale esso debba essere arrestato assai presto, aumentando in tal modo le cause d'errore.

All'atto pratico però, questo metodo presenta i seguenti difetti:

1°. Dovendosi praticare le diverse diluizioni a 1:99, 1:499, 1:999 ecc., si richiede una varietà di recipienti, un'abbondanza di materiale, una larghezza di mezzi di sterilizzazione che non si ha in tutti i laboratori.

2°. La mole dei recipienti, il loro numero e la quantità di acqua sterilizzata occorrenti ne rendono difficoltosissimo il trasporto a distanza, come nei casi in cui — e questo è sempre consigliabile — si debba procedere sul posto alle prime operazioni analitiche.

3°. Stante le forti quantità di acqua impiegate nelle diluizioni non è ammissibile che essa venga, dopo sterilizzata, trasportata alla quantità voluta, nei recipienti, per non incorrere in contaminazioni accidentali quasi certe: onde — secondo fa il *Miquel* — l'acqua viene misurata prima e sterilizzata poi nei recipienti stessi: il calore di sterilizzazione ne evapora però una certa quantità, e le diluizioni operate in simili condizioni non hanno effettivamente il preciso titolo richiesto. È questa adunque una causa d'errore non indifferente.

4°. Dovendosi analizzare un'acqua di cui — come spesso accade — non sia nota neanche approssimativamente la tenuta bacterica, il *Miquel* consiglia di praticare dei saggi preliminari, ovvero di fare una serie di diluizioni a titoli molto differenti, per esempio da 1:10 a 1:100,000.

Nel primo caso si ha un ritardo di almeno 24 ore per l'esame definitivo, con i relativi inconvenienti cui fu già accennato; nel secondo caso l'operazione è resa difficile e lunga dall'ingente quantità di materiale che devesi per ogni analisi apprestare.

* * *

Per rendere più pratico e più esatto il metodo del *Mi* ora descritto, ho cercato di introdurvi alcune modificaz

che, nello stesso tempo, lo semplificassero in modo da metterlo alla portata anche dei più modesti laboratori.

Dopo numerose prove, mi sono arrestato al metodo ch'io ora descrivo, per il quale occorrono:

Dei comuni tubi da cultura
Una pipetta da 10 c.c. graduata
Tre pipette da 2 c. c. } sterilizzate
Varie pipette da 1 c. c.
Dell'acqua sterilizzata.

Nell'uso corrente — secondo la mia esperienza personale — è sufficiente d'impiegar le diluizioni seguenti:

a — 1 : 10
b — 1 : 100
c — 1 : 500
d — 1 : 1000
e — 1 : 5000
f — 1 : 10000
g — 1 : 20000
h — 1 : 50000
i — 1 : 100000

Per ottenere tali diluizioni si cominciano con distribuire, per mezzo della pipetta da 10 c.c., 9 c.c. di acqua sterilizzata in 5 tubi (*a*, *b*, *d*, *f*, *i*); se ne distribuiscono 8 c.c., in 3 tubi (*c*, *e*, *h*) e 19 c.c. in uno (*g*).

Ciò fatto, per la diluizione 1 : 10 si versa, per mezzo di pipetta da 1 c.c., 1 c.c. di acqua da esaminare nel tubo *a*; dopo una accurata agitazione, per distribuire omogeneamente il liquido, si versa, con altra pipetta, 1 c.c. di questa prima diluizione nel tubo *b*, e così di seguito per i tubi *d*, *f*, *i*. Per la diluizione 1 : 500 si versano, con pipetta apposita, nel tubo *c*, 2 c.c. della diluizione 1 : 100; per quella ad 1 : 5000 si versano analogamente 2 c.c. della diluizione 1 : 1000 nel tubo *e*, per quella ad 1 : 50000 si versano nel tubo *h* 2 c.c. della diluizione 1 : 10000: infine si ottiene la diluizione 1 : 20000 versando nel tubo *g* 1 c.c. di quella ad 1 : 10000.

Nella seguente tabella, in cui *X* rappresenta l'acqua da analizzare, ed *S* l'acqua sterilizzata, è riassunto il procedimento ora esposto:

N	Titolo della diluizione	Equivalente in decimali di c. c.	Quantità richieste in c. c.
A	1:10	c. c. 0.1	9 S + 1 X
B	1:100	» 0.01	9 S + 1 A
C	1:500	» 0.002	8 S + 2 B
D	1:1000	» 0.001	9 S + 1 B
E	1:5000	» 0.0002	8 S + 2 D
F	1:10000	» 0.0001	9 S + 1 D
G	1:20000	» 0.00005	19 S + 1 D
H	1:50000	» 0.00002	8 S + 2 F
I	1:100000	» 0.00001	9 S + 1 F

Di ciascuna diluizione si prepara, nel modo solito, una serie di 3 piastre di gelatina, seminandone 1 c.c. per ogni piastra.

Infine le piastre si mettono alla stufa a 20° e si osservano periodicamente giorno per giorno: quelle ove il numero delle colonie, specie se fondenti, è eccessivo si scartano, ritenendo le altre ove il conteggio si può praticare in condizioni migliori.

L'impiego dei tubi da cultura per operare le diluizioni è specialmente indicato nei casi in cui si debbano portar in viaggio per far l'analisi dell'acqua in sito, poichè l'acqua sterilizzata che è distribuita in essi non risente praticamente delle scosse o degli urti, ed è così minore il pericolo di alterarne la quantità.

Per le operazioni in laboratorio servono meglio delle piccole bevute o dei matraccini *Erlenmeyer* nei quali la mise dell'acqua si ottiene rapidamente, giacchè è maggiore campo offerto all'agitazione.

Come risulta evidente, questo metodo rende più agevole e spedito il procedimento analitico, richiede poco materiale e toglie la causa d'errore derivante dall'evaporazione dell'acqua per il calore di sterilizzazione, poichè essa viene ripartita dopo che sia stata sterilizzata.

Inoltre la facilità con cui si può fare un grande numero di diluizioni, rende inutile il saggio preliminare dell'acqua, poichè caso per caso l'ispezione metodica delle piastre ci darà le indicazioni utili al conteggio.

* * *

Impiegando in ogni caso il metodo di numerose diluizioni a vario titolo, per mezzo del confronto delle piastre diverse così ottenuto, si mette in evidenza un fatto della più grande importanza nell'apprezzamento diagnostico dell'acqua, il quale si può brevemente esprimere in questo modo: *Nell'analisi bacteriologica quantitativa di un'acqua, il numero delle colonie sviluppatesi è più completo nelle piastre che hanno ricevuta la diluizione maggiore.*

In altri termini, se noi conteggiamo le colonie comparse in una piastra seminata con una diluizione di 1 : 100 e quelle di un'altra seminata con una diluizione di 1 : 5000 e ne riferiamo le cifre ottenute al c.c., noi troviamo che il numero dei microbi è, di norma, superiore a quello della prima.

Naturalmente la maggior diluizione utile varia a seconda della ricchezza microbica dell'acqua: il *Miquel* ritiene giustamente che le piastre in migliori condizioni per il conteggio sieno quelle ove si sono sviluppati da 1 a 5 germi.

Nel corso di alcune mie ricerche ho avuto campo di constatare come l'assunto ora enunciato segua una regola presso che costante: le cifre seguenti, tolte dai miei protocolli, serviranno d'esempio:

Osservazione I.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1 : 10	25	250	986	9860
1 : 100	11	1100	113	11300
1 : 1000	3	3000	28	28000
1 : 100000	5	500000	31	3100000

Osservazione II.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1 : 1000	2	2000	24	24000
1 : 10000	1	10000	8	80000
1 : 100000	1	100000	24	240000

Osservazione III.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1 : 10	25	250	986	9860
1 : 100	11	1100	113	11300
1 : 1000	3	3000	28	28000
1 : 100000	5	500000	31	3100000

Osservazione IV.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1:10	30	300	408	4080
1:100	»	»	31	3100
1:1000	2	2000	27	27000
1:10000	5	50000	75	750000

Osservazione V.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1:10	7	70	57	570
1:100000	5	500000	416	41600000

Osservazione VI.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1:10	13	130	465	4650
1:100	11	1100	77	7700
1:1000	1	1000	8	8000
1:10000	1	10000	2	20000
1:100000	2	200000	38	3800000

Osservazione VII.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1 : 10	16	160	796	7960
1 : 100	16	1600	218	21800
1 : 1000	1	1000	9	9000
1 : 10000	1	10000	6	60000
1 : 100000	1	100000	6	600000

Osservazione VIII.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1 : 100	23	2300	161	16100
1 : 1000	4	4000	15	15000
1 : 10000	1	10000	3	30000
1 : 100000	1	100000	2	200000

Osservazione IX.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1 : 100	2	200	111	11100
1 : 1000	1	1000	11	11000
1 : 20000	1	20000	5	50000

Osservazione X.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1 : 100	20	2000	innumeri	innumeri
1 : 1000	1	1000	61	61000
1 : 10000	1	10000	14	140000
1 : 20000	1	20000	9	180000

Osservazione XI.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c c.	Trovati	Per c.c.
1 : 100	16	1600	395	39500
1 : 10000	4	40000	387	3870000

Osservazione XII.

Titolo della diluizione	MICROBI			
	Fondenti		Non fondenti	
	Trovati	Per c.c.	Trovati	Per c.c.
1 : 100	25	2500	470	47000
1 : 1000	1	1000	343	343000
1 : 10000	1	10000	24	240000
1 : 20000	1	20000	131	2620000

Le acque esaminate nelle osservazioni I–VIII appartengono al Canale di Reno, il quale attraversando la città di Bologna va soggetto a forti inquinamenti, la cui intermittenza risulta evidente dall'esame delle cifre riportate.

Le acque prese in esame nelle osservazioni IX–XII appartengono invece all'Aposa, torrente che pure attraversa la città di Bologna, e serve come collettore delle fogne di buona parte di essa.

Gli esempî riportati nelle tabelle suesposte mi sembrano abbastanza dimostrativi perchè io debba produrne altri ancora.

Noi siamo evidentemente in presenza di acque ad altissima tenuta bacterica, e la necessità di impiegare delle forti diluizioni per apprezzarla al suo giusto valore risulta imprescindibile.

Se noi ci fossimo limitati alle diluizioni di 1 : 10 o 1 : 100 — quali sono abitualmente usate nell'analisi corrente delle acque — ci saremmo talora trovati di fronte a risultati tali da indurci a ritenere le acque esaminate poco men che potabili.

Infatti i limiti di potabilità più generalmente accettati sono i seguenti, dati dal *Miquel:*

Acqua	eccessivamente pura	da 0	a 10	bacteri per c.c.
»	purissima	» 10	» 100	»
»	pura	» 100	» 1000	»
»	mediocre	» 1000	» 10000	»
»	impura	» 10000	» 100000	»
»	molto impura	» 100000 in poi		»

Il congresso dei chimici elvetici di Friburgo ha stabilito come limite massimo 150 germi per c.c.; *Emmerich* e *Trillich* lo portano a 200; *Fränkel* a 250; *Plagge* e *Proskauer* a 300; *Gärtner* a 500, ecc.

Orbene, nell'Oss. V — di cui ho portato le diluizioni esterne di 1 : 10 ed 1 : 100000 perchè più evidente risultasse il confronto — con la prima diluizione si è ottenuto un totale di 640 germi al c.c., il che ci avrebbe fatto giudicare secondo la scola del *Miquel*, come pura un'acqua che diluita all'1 : 100000 ci ha dato l'enorme cifra di 42,100,000 bacrobi al c.c.!

Fermandoci alla diluizione 1 : 10, avremmo ritenuto tutt'al più come mediocremente potabile il campione della Oss. IV, che ci ha dato 4380 bacteri, mentre ad 1 : 10000 ne dava 80000, e quello della Oss. VI, che ad 1 : 1000 dava 10000 microbi mentre ad 1 : 100000 ne dava 3,800,000.... e così via dicendo.

Anche nell'esame delle acque che si ritiene posseggano una tenuta bacterica non eccessivamente alta è adunque indispensabile di procedere a numerose diluizioni a titoli molto differenti, poichè le diluizioni o i frazionamenti impiegati nella pratica comune non bastano a offrire un giusto criterio della quantità reale di germi in esse contenuti. E conseguentemente qualora si voglia annettere un qualche valore ai *numeri-limite* — che del resto non si debbono accettare, nei riguardi della potabilità di un'acqua, se non in concomitanza di tutti gli altri coefficenti dati dalla ispezione sul luogo, dall'analisi chimica e dall'esame bacteriologico qualitativo — essi dovranno esser portati ad una cifra assai superiore, poichè adottando il criterio delle grandi diluizioni, tali limiti saranno quasi sempre superati anche dalle acque nelle migliori condizioni di potabilità.

* * *

Quali le ragioni dei fatti sinora esposti?

Il semplice buon senso ci suggerisce come non possano germogliare microbi là ove loro manchi lo spazio per farlo: effettivamente l'osservazione delle piastre dimostra che in quelle ove le piccole diluizioni portano una maggiore quantità di germi non si sviluppano tutte le specie che si vedono apparire nelle diverse altre piastre, in cui il più forte frazionamento le suddivise in maniera da permetterne lo sviluppo di tutte o quasi tutte.

Siamo dunque di fronte ad una prova di più che esistono specie di microrganismi le cui proprietà individuali conducedono loro di sopraffare e sostituirsi ad altre meno resistenti: è la lotta per la vita che si svolge tra gli infinita-

mente piccoli e che ci fa rientrare nel dominio dei fenomeni antagonistici.

Quali sieno i rapporti di antagonismo fra i più comuni germi idrici spero di poter mostrare in seguito pubblicando alcune ricerche sistematiche attualmente in corso su tale argomento.

Bibliografia.

SANARELLI La diagnosi igienica delle acque potabili. (La Clinica Moderna, 1895).

MIQUEL, Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux. Paris, 1891.

MIQUEL et CAMBIER, Traité de bactériologie. Paris, 1902.

DUCLAUX, Traité de microbiologie. Tome I. Paris, 1898.

MIQUEL, Annuaires de Montsouris.

ABBA, Manuale tecnico di microscopia e bacteriologia. Torino, 1902.

ROUX G., Précis d'analyse bactériologique des eaux. Paris, 1892

CROOKSHANK, Test Book of Bacteriology. London, 1896.

LEWIS and BALFOUR, Public Health and Preventive Medicine. Edinborough, 1902.

KENWOOD, Public Health Laboratory Work. London, 1893.

STEVENSON and MURPHY, Treatise on Hygiene and Public Health. London, 1892.

HEIM, Lehrbuch der bakteriologischen Untersuchung und Diagnostik. Stuttgart, 1894.

BESSON, Technique microbiologique et sérothérapique. Paris, 1902.

NICOLLE et REMLINGER, Technique bactériologique. Paris, 1902.

BERLIOZ, Précis de bactériologie médicale. Paris, 1903.

ABEL, Manuale di tecnica bacteriologica. Trad. ital. Palermo, 1903.

RUATA e TONZIG, Nozioni tecniche di bacteriologia, microscopia e chimica applicate all'igiene. Padova, 1901.

MIGULA, Compend. d. bakteriolog. Wasseruntersuchung, 1901.

NOTE CLINICHE E ANATOMO-PATOLOGICHE

IN VARII CASI DI MENINGITE TUBERCOLARE.

(Con 8 tavole in litografia).

PROF. R. SILVESTRINI

Direttore dell' Istituto di Clinica e di Patologia medica
nell' Università di Camerino.

In meno di due anni mi è occorso di vedere diversi casi di meningite tubercolare in adulti: in alcuni di questi ho potuto osservare qualche fatto che merita ricordo per la semeiotica delle meningiti; in sette ho praticata la puntura alla *Quincke* esaminando accuratamente il liquido estratto quanto alla sua colorazione, alla formazione della tela di ragno, alla formula leucocitaria, alla presenza del bacillo di *Koch*; in quattro, nei quali l'autopsia è stata fatta su cadaveri ottimamente conservati, ho studiato le alterazioni citoscopiche della corteccia cerebrale, del cervelletto, del bulbo, del midollo.

Riassumo le principali notizie dei singoli casi osservati.

I. — Trognoni Cesare, di 21 anno, celibe, scalpellino, di Castelraimondo, entrato in Clinica il giorno 5 febbraio 1902, vi è morto il 28 dello stesso mese. La storia di questo caso ho già pubblicata per esteso: il paziente fin da tre anni innanzi aveva avuto convulsioni a tipo Jacksoniano: ai primi del gennaio del 1902 cominciò ad accusare senso di stanchezza, cefalea; ebbe poi febbre, subdelirio. Entrato nell'Ospedale presentò sempre temperatura febbrile non molto elevata, psiche torpida, delirio, specialmente durante la notte, talora intensissima cefalea che lasciava periodi di tregua, un grande progressivo deperimento nelle condizioni generali. Vomito, strabismo, diplopia, asimmetrie facciali, i dimento a una flessione esagerata del capo, rigidità spinale, riflessi r lei esagerati, clono del piede furono i sintomi che suggerirono la d nosi di meningite. Si fece la puntura lombare: una grande abbon- d a di leucociti e la prevalenza dei polinucleari mi soffermarono sulla v della diagnosi così che nell'ipotesi lontana di un ascesso (date le

precedenti convulsioni) feci eseguire l'esplorazione endocranica, in seguito alla quale, riuscita negativa, affermai la diagnosi di meningite tubercolare secondaria a tubercolo, diagnosi confermata al tavolo anatomico. Colla puntura alla *Quincke*, praticata due volte, si raccolsero ogni volta circa 40 c.c. di liquido, e si portò un breve periodo di sollievo all'infermo: diminuì la cefalea, riapparve la coscienza, diminuì la vivacità del riflesso rotuleo e del clono del piede.

Facendo preparati (colorazione Ziehl) coll'abbondate reticolo fibrinoso formatosi nel liquido cefalo-rachidiano tenuto in termostato per quattro giorni si potevano vedere eleganti gruppetti di bacilli tubercolari, vere piccole colonie.

II. — Ferretti Giovanni, d'anni 21, detenuto, celibe, di Matelica, entrato in Clinica il 20 febbraio 1902, vi morì il 1° marzo.

In questo paziente, che era stato in precedenza più volte tossicoloso, cominciarono ad apparire i primi sintomi della malattia circa 10 giorni prima del suo ingresso in Clinica, con cefalea, disappetenza, febbre, malessere generale.

In Clinica la cefalea era nei primi giorni accusata intensissima, si alternava con momenti di quiete; subentrò poi uno stato soporoso grave. Strabismo, diplopia, disuguaglianza nell'apertura pupillare, mancanza di reazione pupillare agli stimoli luminosi, lievi asimmetrie facciali, iperestensione del capo sul tronco con rigidità della nuca, segno di *Körnig* evidentissimo, segno del *Trousseau*, esagerazione nei primi giorni dei riflessi patellari che non erano ugualmente esagerati, clono del piede più evidente a destra (dallo stesso lato della maggiore esagerazione del riflesso patellare), abolizione negli ultimi giorni dei riflessi stessi, che riapparvero fugacemente dopo la puntura alla *Quincke*, colla quale si restituì all'infermo anche un breve periodo di cosciente risveglio, lesioni tubercolose degli apici polmonari erano tutti sintomi che non lasciavano dubbio sulla diagnosi di meningite tubercolare. Non fu permessa l'autopsia.

In questo caso nel liquido estratto colla puntura alla *Quincke* (circa 30 c.c.) la formula leucocitaria seguiva la regola data da *Widal* e *Ravaut;* pochi leucociti e quasi tutti linfociti. Scarso, tenuissimo il reticolo fibrinoso: nei preparati fatti distendendo il reticolo stesso su vetrini, colorando col metodo di *Ziehl*, anche senza aver tenuto il liquido in istufa si poterono dimostrare bacilli tubercolari, sebbene non riuniti a mazzetti come nel primo caso. Il colorito del liquido tendeva leggerissimamente al giallo.

III. — Cintioli Sabatino, d'anni 28, contadino, celibe, di Came[illegible] entrato in Clinica il 16 giugno, è morto il 20 dello stesso mese. I[illegible]

ziente, giovane molto robusto, senza aver avuto precedenti, da qualche giorno prima del suo ingresso in Clinica aveva accusato cefalea, senso di stanchezza, si era poi messo in letto con febbre leggiera. Era peggiorato rapidamente. Portato in clinica delirante si presentava in preda a sussulti muscolari evidentissimi anche nei muscoli della faccia: si notarono strabismo, differenza nell'apertura pupillare fra i due lati, asimmetria faciale per deficienza del faciale sinistro. Passò la prima notte agitatissimo: al mattino si praticò la puntura lombare dando esito a circa 60 c.c. di liquido che fuoriuscì con veemenza in principio. Questo liquido era così colorito in giallo arancione come non ho altre volte veduto, ed era manifestamente dicroico.

La formula leucocitaria seguiva la regola: leucociti piuttosto scarsi; tenue il reticolo fibrinoso. In questo caso non potei dimostrare nel reticolo la presenza di bacilli tubercolari. Si fece dopo estrazione del liquido, senza levare la cannula, iniezione di una soluzione iodo-iodurata: quest'iniezione riuscì assai dolorosa per il paziente, sebbene il dolore si mitigasse presto. Dopo la puntura alla *Quincke* l'infermo si calmò, non accusò la cefalea; riposò nella notte successiva; tornarono i riflessi patellari, che erano scomparsi.

Il giorno dopo i riflessi scomparvero di nuovo, l'infermo cadde in coma, e venne, a traverso il coma, la morte. Nel periodo breve d'osservazione in Clinica la temperatura non sorpassò mai i 37°,3 e il polso si mantenne fra le 60 e le 76 pulsazioni.

L'autopsia parziale confermò la diagnosi di meningite tubercolare.

IV. — Ulibani Augusta, d'anni 21, donna di casa, coniugata, di Camerino entrata in Clinica il 5 maggio 1902 è morta il 15 dello stesso mese. Una sorella della paziente era morta bambina per tabe mesenraica. La paziente era stata sempre sana: dopo un parto era stata accolta l'anno precedente nell'Ospedale per una pleuro-polmonite. Non si rimise più completamente in salute: nei primi d'aprile venne all'ambulatorio della Clinica lagnandosi di tosse, debolezza generale, cefalea, tendenza al vomito, diplopia. Si trovarono allora lesioni biapicali tubercolari, si sospettò la localizzazione meningea.

Però la paziente ebbe un periodo di lieve miglioramento, poi dovette mettersi in letto con tosse, dispnea, senso di costrizione al torace, cefalea intensa. Tre giorni prima dell'ingresso della malata in clinica comparve il delirio. In Clinica si osservò: trepidazione, delirio agitato ricorrente a periodi, cefalea accusata intensissima durante i momenti di quiete, febbre sempre elevata; asimmetria faciale, diplopia, differenza nell'apertura pupillare, pupille a contorni irregolari, reagenti con poca prontezza e spasticamente; dolentissimi i punti d'uscita dei rami del V°. La paziente aveva sempre respiro affannoso, breve; ma andava soggetta a veri accessi dispnoici; al torace in corrispondenza degli apici bilate-

ralmente ipofonesi molto accentuata più estesa a sinistra, ipofonesi molto accresciuta dal primo esame che avevamo potuto fare dell'inferma all'ambulatorio: in corrispondenza respiro molto scarso, aspro, tendente al soffiante; rumori bronchiali a piccole e medie bolle.

Asprezza di respiro su tutto l'ambito toracico. Fegato aumentato di volume, milza leggermente demarginante dall'arco costale: albumina nelle urine, cilindri ialini, qualche cellula renale; pigmenti biliari. Iperestesia, segno di *Trousseau* manifesto; riflessi tendinei esagerati, clono del piede, segno di *Körnig*.

Colla puntura alla *Quincke* si estrassero circa 40 c. c. di liquido: si osservò un miglioramento notevole, la cessazione del delirio.

Presenti i bacilli tubercolari, ritrovati nei preparati fatti colla fibrina del reticolo dopo aver tenuto qualche giorno il liquido in istufa a 37°. Negli ultimi periodi la paziente ebbe coma, abolizione dei riflessi, deviazione del capo e degli occhi a sinistra, perdita d'urine, di feci.

Per i sintomi toracici (specialmente per la dispnea accessionale) per la febbre sempre elevata, per l'aumento del fegato e della milza, per la notevole albuminuria, per la presenza di pigmenti biliari formulai la diagnosi di *tubercolosi miliarica con speciale localizzazione polmonare e meningea*.

L'autopsia confermò la diagnosi: gli apici polmonari erano ridotti a un gruppo di tubercoli più grossi, più vecchi; esistevano essudati meningeali abbondanti alla base, e sul lobo destro del cervelletto; tubercolini giovani in quantità nella milza, nel fegato, nel rene.

V.— Travarelli Giovanni, d'anni 15, colono, celibe, di Paterno, entrato in Clinica il giorno 21 marzo vi è morto il 27 dello stesso mese.

Nulla d'ereditario. Il paziente, che era stato sempre guardiano di pecore, un anno innanzi era entrato cameriere in una casa dove la padrona era tubercolosa da circa otto anni.

Un mese prima del suo ingresso in Clinica il paziente aveva avuto tosse con molto escreato. Migliorato della tosse, aveva cominciato a deperire nelle condizioni generali; negli ultimi giorni si erano manifestati vomiti, s'era osservato attutimento del sensorio, variazione di carattere; c'era stato qualche lieve aumento di temperatura. Il paziente presentava, trasportato in Clinica, uno stato di subdelirio, rigidità dei muscoli della nuca, asimmetria faciale, differenza nell'apertura pupillare ai due lati, pigra reazione pupillare allo stimolo luminoso, segno del *Trousseau*, segno del *Körnig*, mancanza di clono del piede, riflesso patellare abolito a sinistra, debolissimo a destra. La temperatura oscillò nei primi giorni di degenza fra 37°,1 e 38°,9, negli ultimi tre giorni fra 35°,8 e 37°,9. Il p che raggiunse le 108-112 pulsazioni nei primi giorni scese negli ul a 75-80: crebbero da 16 a 22 le respirazioni.

Colla puntura alla *Quincke* si estrasse molto liquido (circa 60 c

assai limpido, leggerissimamente colorato in giallognolo: la puntura portò un miglioramento fugace. Nel rèticolo esistevano rari bacilli tubercolari.

L'autopsia confermò la diagnosi di *menengite tubercolare.*

VI. — Nalli Paolo, d'anni 23, colono, celibe, di Torrone, entrato in clinica il 17 gennaio 1903 vi è morto il 31 dello stesso mese.

Una sorella morì a 17 anni, molto anemica.

Il paziente ebbe in passato qualche ingorgo glandulare al collo, e ne guarì con applicazione di pomate iodo-iodurate.

Nell'ottobre 1902 cominciò ad accusare qualche dolore nella regione lombo-sacrale tanto che era costretto a lasciare il lavoro. Verso la fine del dicembre ebbe anoressia, grave senso di malessere. Si mise in letto; migliorò; potè alzarsi. Il 1° gennaio quasi repentinamente fu colto da intensa cefalea: nella notte insonnia; nei giorni successivi alla cefalea si aggiunse il vomito; ritornò la febbre; infine apparve rigidità della colonna vertebrale così che il piegarsi all'innanzi, il mettersi seduto sul letto produceva vivo dolore.

All'ingresso del paziente in Clinica si trovarono masse muscolari flaccide, cute pallida sollevabile in larghe pieghe, psiche molto ottusa con periodi d'un certo risveglio, cefalea continua variabile di intensità, asimmetria faciale per deficenza del faciale sinistro, insufficenza del m. retto esterno a destra, non diplopia, dolenti alla pressione i punti d'uscita dei rami del V°, iperestesia, abolito il riflesso patellare, vivacissimo il riflesso cremasterico.

Facendo camminare il paziente, apparve chiara atassia con tipo cerebellare con lieve movimento di maneggio, tendendo il paziente a deviare verso destra. Evidentissimo il sintomo del *Romberg.* La temperatura oscillò fra 37°,5 e 38°,8 presentando una curva molto irregolare: sopraggiunse delirio agitato, strabismo, trepidazione generale, ineguaglianza pupillare; la reazione della pupilla alla luce scomparve, nell'ultimo periodo ci fu perdita d'urine e di feci, impossibilità a deglutire: nelle urine presenza di una tenue quantità di albumina, fosfati abbondantissimi.

La puntura alla *Quincke* mal riuscita diede esito a pochi c.c. di liquido misto a sangue: portò poco risveglio.

Avvenne la morte a traverso uno stato comatoso.

Il caso fu discusso in iscuola, e fu emessa questa diagnosi: *meningite tubercolare secondaria a tubercolo cerebellare* interessante il verme, ma probabilmente con prevalenza di sede a destra. Questa diagnosi fu ggiata sul periodo prodromale sofferto dal paziente, sulla speciale asia, sul movimento di maneggio.

L'autopsia confermò pienamente la diagnosi: il tubercolo cerebellare a grosso come una piccola avellana.

Ricordo succintamente accanto a questi casi osservati in Clinica, alcuni che ho potuto osservare durante lo stesso periodo di tempo nella pratica privata.

VII. — N.... N.... giovanotto di 28 anni, appartenente a famiglia di contadini in cui è stato qualche caso di scrofola.

Dopo essersi bagnato sotto la pioggia, cominciò ad accusare forte cefalea. Potè per qualche giorno seguitare ad attendere alle faccende dei campi, poi dovette mettersi in letto, comparve la febbre.

Vidi in consulto questo paziente: era molto robusto, e nel momento della mia visita si presentava assai calmo, sebbene apparisse una certa stranezza della psiche. Aveva temperatura piuttosto elevata, polso cerebrale, congiuntive fortemente iniettate, non strabismo, non diplopia, non asimmetrie facciali. Mancava la cefalea, che, al dire del paziente, ricorreva a periodi.

Al collo esisteva una glandola linfatica notevolmente tumefatta, era chiara la rigidità spinale; l'infermo si ribellava ad esser messo seduto come ad una grande fatica; esistevano sintoma del *Körnig*, iperestesia, sintoma del *Trousseau*, aumento dei riflessi non uguale bilateralmente, clono del piede.

Pochi giorni appresso avvenne la morte a traverso una sintomatologia non dubbia di meningite basilare.

VIII. — N.... N.... sacerdote di 26 anni, da me veduto ai Bagni di Chianciano, si presentò all'ambulatorio accusando cefalea, incertezza nel camminare, grande depressione di forze: i fenomeni insorti da qualche giorno andavano rapidamente aggravandosi. Il paziente era venuto ai Bagni per curarsi di una cistite che da anni lo tormentava; in certi periodi insieme con molto pus aveva anche urinato sangue.

Le condizioni generali del paziente erano molto tristi; il suo modo d'incedere richiamò subito la mia attenzione. Portava il tronco piuttosto indietro, teneva gli arti inferiori assai divaricati prendendo larga base ed aveva andatura d'ubriaco. Presentava leggera asimmetria facciale, leggiera differenza pupillare: i riflessi patellari erano diminuiti bilateralmente, ma non in modo uguale. Consigliai il paziente a mettersi subito in letto: il suo stato s'aggravò rapidissimamente, ed avvenne la morte tre giorni dopo ch'egli aveva potuto far a piedi un buon tratto di strada per venire a farsi visitare allo Stabilimento.

IX. — N.... N.... giovanotto sui 20 anni, colono, si ammalò con c lea intensa, con qualche disturbo intestinale, con febbre. Si dubitò f tarsi di tifoide. Lo vidi in consulto col dott. *Paganelli* e non potei a lutamente escludere in una prima visita la tifoide, trovando aumen

il volume della milza. Proposi però la puntura alla *Quincke* che fu fatta dando esito a circa 60 c.c. di liquido limpido, ma discretamente corpuscolato, in cui si trovarono i bacilli tubercolari.

In questo paziente mancava, quando fu fatta la puntura, ogni segno da parte dei nervi cranici, esistevano iperestesia, segno del *Körnig*, aumento dei riflessi patellari bilateralmente.

La puntura portò tanto sollievo al paziente che la famiglia non credeva più alla prognosi fatta: ma il giorno appresso l'infermo si aggravò di nuovo e in breve periodo di tempo morì colla sindrome sintomatica classica della meningite basilare.

Si dimostrarono nel reticolo piuttosto abbondanti i bacilli tubercolari.

Valore di alcuni sintomi.

Cefalea. — Questo sintoma così frequente, colla variabile intensità, suscitabile, aumentabile nei movimenti degli infermi ha un grandissimo valore. E nella cefalea di questi ammalati c'è la sproporzione fra la gravità del dolore accusato e lo stato della fisionomia che non lo esprime.

Sindrome basilare. — Può mancare, in alcuni casi, fino negli ultimi periodi del male. Talora tutto si compendia in una poco percettibile differenza fra un lato e l'altro della faccia. La reazione delle pupille ha sempre un grande valore; anche quando non esistono differenze pupillari, una certa lentezza a rispondere allo stimolo luminoso, la risposta a scatti, la contrazione a traverso oscillazioni di miosi e di midriasi son fenomeni da tenersi in gran conto.

Rigidità spinale. — È sintoma frequentissimo. Quando si ha poco estrinsecato, i pazienti si mostrano come affaticati di certi movimenti (incurvamento all'innanzi) protestano, anelano d'esser lasciati tranquilli.

Segno del Körnig. — È spesso presente nei meningitici, ma può mancare: lo trovai mancante ad esempio nel malato III, mentre lo potevo dimostrare contemporaneamente chiarissimo in un tifoso senza speciale sindrome meningea. Del resto altri (*Clark*, *Shields*) hanno ormai dimostrato gli stessi fatti.

Riflessi. — Mi son sempre più persuaso della grande importanza che ha la ricerca di questo segno. I riflessi possono essere aumentati, o diminuiti, o scomparsi; ma difficilmente il fatto è ad es. per il riflesso patellare bilateralmente uguale. Così ha importanza il fenomeno del clono del piede, che pure non suol essere uguale ai due lati. Non è difficile, nei casi in cui i riflessi tendinei sono aboliti, vederli ritornare dopo la puntura alla *Quincke*, come non è difficile il vederli diminuire se esagerati, il veder scomparire il clono del piede.

Polso. — Può accadere in un periodo inoltrato d' una meningite di

aver rarefazione del polso che prima era molto frequente, e colla rarefazione d'aver un aumento nella validità. Sarebbe errato fidarsi di questo segno per rinunziare a una prognosi di prossima fine: il polso si perde in questi casi quasi repentinamente.

Segni di tubercolosi generalizzata. — La dispnea accessionale, l'aumento del fegato e della milza, l'albuminuria, la diarrea, il rapido deperimento dei pazienti son tutti sintomi che ben valutati possono rivelare la diffusione generale dei tubercoli. La curva termica in questi casi suol esser meno capricciosa, e suole mantenersi a un grado abbastanza elevato: però ciò non costituisce una regola costante.

Alcuni caratteri del liquido cefalo-rachidiano.

Ho fatto la puntura alla *Quincke* nei primi casi, collocando in posizione laterale l'infermo, mettendo sotto il fianco due e tre guanciali per far meglio incurvare la spina nella porzione lombare, infiggendo un lungo ago-cannula a livello della cresta iliaca a tre centimetri di distanza dalla vertebrale dirigendolo lievemente in alto e in dentro.

Il più delle volte si riesce in questo modo a penetrare subito direttamente nel cul di sacco della dura madre spinale; ma qualche volta si stenta a penetrare producendo ai pazienti il prolungamento d'una sensazione molto dolorosa.

Negli ultimi casi ho usato, e me ne sono trovato bene, la puntura sulla linea vertebrale, infiggendo l'ago fra l'apofisi spinosa della quarta e quinta lombare. Il dolore potrà essere uguale o magari più vivo, ma è istantaneo per il pronto passaggio dell'ago-cannula; inoltre il liquido cefalo-rachidiano viene fuori limpido fino dal primo getto, senza commistione di sangue, come mi è accaduto di osservare qualche volta adoprando l'altro metodo di puntura.

Quantità del liquido. — Ognuno sa come in altri processi morbosi oltre che nella meningite si possa estrarre colla puntura alla *Quincke* una notevole quantità di liquido; io stesso ho verificato questo fatto in casi di tumori, di uremia. In una bambina molto anemica e deperita ricevuta quest'anno comatosa in clinica, in cui feci diagnosi di tubercolosi peritoneale, non ammettendo il coma uremico (sebbene esistesse albumina nelle urine) ma ascrivendolo ad una probabile ripetizione della tubercolosi nelle meningi, la puntura alla *Quincke* diede esito a liquido molto abbondante, leggerissimamente torbido, liquido in cui si formò uno scarso reticolo. All'autopsia, oltre alla caseosi delle glandole meseraiche, si trovarono due grossi tubercoli, uno nel cervelletto ed uno centro ovale di destra: si dubitò all'esame macroscopico che esisti qualche piccolo tubercolo lungo i vasi della pia, ma l'esame istolo fece escludere la meningite.

Tela di ragno. — Questo reperto, di cui il *Mya* ha ben dimostrato il valore, in due soli casi finora ho veduto non corrispondere a un processo di meningite tubercolare; nel caso sopra citato, ed in un caso di ascesso cerebrale nella clinica di Firenze. La tela di ragno può essere più o meno abbondante senza aver relazione colla durata del processo; piuttosto una relazione mi è apparsa colla maggiore o minore corpuscolazione dell'essudato.

Formula leucocitaria. — In uno solo de' miei casi, e di questo ho già scritto altrove, la formula è apparsa del tutto inversa a quella che *Widal* e *Ravaut* vogliono caratteristica della meningite tubercolare, ed era quello un caso di lunga durata, cosicchè non sarebbe da ammettersi in modo perentorio la relazione, che alcuni osservatori avrebbero veduto, fra durata della malattia e abbondanza di linfociti. Neppure la quantità dei leucociti ha relazione colla rapidità del decorso. Secondo una osservazione del *Bozzolo*, una notevolissima quantità di leucociti può esistere in un liquido cefalo-rachidiano senza che si ritrovino all'autopsia le alterazioni di una meningite, ma soltanto uno stato iperemico delle meningi.

Se ne deduce che la citodiagnosi, com'è ormai quasi comune consenso, ha un valore molto relativo per rivelare la natura di un essudato estratto colla puntura alla *Quincke*, e non ha relazione nè colla durata, nè col quantitativo di lesione meningea.

Presenza del bacillo di Koch. — Il bacillo di *Koch* fu ritrovato nel liquido cefalo-rachidiano facendo preparati dal reticolo fibrinoso nei casi I, II, IV, V, IX: lasciando il liquido qualche giorno in istufa a 37°, si trovano vere piccole colonie di bacilli.

Potere riducente. — Ho ricercato il potere riducente del liquido cefalo-rachidiano facendo uso del metodo del *Williamson*; il liquido cefalo-rachidiano ha un potere riducente assai minore dello stesso siero di sangue: occorrevano in un caso 15 gocce di liquido cefalo-rachidiano per dare la reazione che si otteneva con 6 gocce di siero di sangue dell'ammalato. La diminuzione del potere riducente è stata osservata anche dal *Comba*.

Colorazione. — È cosa non dubbia che il liquido cefalo-rachidiano contiene spesso un pigmento; nel III dei casi ricordati il fatto era evidentissimo.

Debbo dire riguardo a questo pigmento che quando si produce emoglobinuria colla glicerina nel coniglio, appare nelle orine, insieme con altri, un pigmento che in soluzione acquosa dà la stessa apparenza della colorazione osservata nel liquido cefalo-rachidiano.

Studio citoscopico.

Per uno studio citoscopico del sistema nervoso fu raccolto materiale da quattro cadaveri in ottimo stato di conservazione: n. I, IV, V, VI. Si raccolsero pezzi di corteccia cerebrale in corrispondenza della zona rolandica, pezzi di cervelletto, il bulbo ed il midollo allungato e pezzi di midollo spinale.

Si fece la fissazione in soluzione di sublimato (7 gr. per cento con aggiunta di mezzo grammo di cloruro di sodio) e in alcool assoluto. Si praticarono inclusioni dei pezzi in celloidina e in paraffina: a preferenza in paraffina. Si adoprò la colorazione di *Nissl*; senza escludere colorazioni al carmoallume, colorazioni coll'ematossilina col metodo di *Martin-Haidenhain*. Per la colorazione alla *Nissl* usai una soluzione satura acquosa di tionina, una miscela di olio di anilina e alcool assoluto (9-1) come decolorante.

Caso I. — *Corteccia cerebrale.* — Le cellule piramidali appaiono raggrinzate; la sostanza di *Nissl* si trova come accumulata in massarelle irregolari alla periferia del corpo cellulare in molti elementi o attorno al nucleo; scarsissima quantità della stessa sostanza in minutissimi granuli nel resto del corpo cellulare. Il nucleo è in alcuni elementi evidentemente spostato, si colora meno intensamente del normale quasi per una rarefazione del reticolo cromatico: altri elementi son pochissimo colorati *in toto*, deformi; ed è specialmente su queste cellule che si vedono accollati nuclei molto colorati con alone chiaro attorno, elementi simili a quelli che si vedono qua e là ammucchiati lungo il decorso dei vasi

Cervelletto. — Le cellule del *Purkinje* appaiono assai diverse dal normale e non tutte ugualmente colpite, nè ugualmente lese nelle diverse zone del cervelletto.

In alcune parti sono molto aggrinzite così che il loro contorno appare dentellato, hanno pochissima sostanza cromatica, le zolle più grosse, che si vedono nelle cellule normali, son del tutto scomparse: il corpo cellulare specialmente verso il prolungamento appare scolorito. In molti elementi cellulari è evidentissimo uno spostamento del nucleo che appare impoverito di cromatina, spicca intensamente colorato il nucleolo.

Midollo allungato. — Si osservano in alcuni gruppi cellulari gli elementi profondamente alterati, in altri gruppi cellulari gli elementi assai ben conservati per la forma, per la disposizione della sostanza cro tica di *Nissl*. In uno stesso gruppo cellulare si può vedere qualche mento con spiccata cromatolisi accanto ad altri, in cui la sostanza matica si trova invece riunita in grosse zolle. Attorno ad elementi m

alterati, innicchiati nella stessa nicchia dell'elemento cellulare si vedono elementi simili a leucociti.

Midollo spinale cervicale. — Nei tagli si vede all'esterno uno strato di leucociti con nucleo molto frammentato impigliati in un reticolo fibrinoso; l'accumulo di leucociti lungo il decorso dei vasi è evidentissimo. Lo spazio del canal centrale è completamente occluso da un grosso zaffo di leucociti che dilata il canale stesso. Negli elementi cellulari delle corna anteriori si vedono alterazioni diverse: in alcuni la sostanza di *Nissl* ha perso la sua regolare disposizione ed è riunita in zolle molto grosse perinucleari, rotondeggianti, in altre si osserva una minuta spolverizzazione di questa sostanza: alcuni elementi appaiono raggrinzati, con nucleo evidentemente spostato, con scarsissima sostanza cromatica.

Nelle cellule delle corna posteriori prevale il grande impoverimento di sostanza cromatica: molti di questi elementi cellulari appaiono aggrinzati, scoloriti, con leggero accumulo della sostanza cromatica periferico o perinucleare.

Caso. IV. — *Corteccia cerebrale.* — Lesioni identiche a quelle descritte nel caso precedente: si vedono benissimo attorno ad elementi molto deformati, con scarsissima sostanza cromatica, con nucleo spostato alla periferia, cellule con nucleo molto colorato e con tenue alone di protoplasma.

Cervelletto. — La nota predominante è il grande sminuzzamento e la diminuzione della sostanza di *Nissl:* si vedono cellule che hanno pochissima sostanza di *Nissl* sul prolungamento e la stessa sostanza ammassata in granuli anche più grossi all'opposto polo cellulare. Qualche cellula appare manifestamente raggrinzata: molte son deformate, hanno nucleo eccentrico e attorno alle più deformate poco appariscenti per la grande diminuzione della sostanza di *Nissl* si vedono le solite cellule neurofaghe.

Il nucleo si mostra molto alterato: rigonfio in alcune cellule, con aspetto vescicolare, e retratta intorno al nucleolo, molto colorato, una sostanza che piglia maggiormente il colore dell'altra a contorno netto circolare: in mezzo a questa sostanza retratta punticini più coloriti, rappresentati ciò che resta del reticolo cromatico.

In qualche cellula si vede la sostanza cromatica riunita in blocchi assai più scarsi, ma assai più grossi che nella cellula normale.

Midollo allungato. — Si vedono alcuni gruppi di cellule, in cui gli elementi singoli hanno assai conservata la normale distribuzione della sostanza cromatica: negli elementi di uno stesso nucleo ne appare qualmo in cui la sostanza di *Nissl* è finissimamente spolverizzata, qualmo in cui si trova scarsissima.

Midollo spinale — La sostanza cromatica di *Nissl* è diminuita in molti elementi cellulari; alterata nella forma e nella disposizione. Celle con blocchi di sostanza cromatica più grossi del normale, irregolar-

mente disposti si trovano nelle corna anteriori accanto a cellule con fine spolverizzamento della stessa sostanza cromatica. Si osservano cellule nelle corna posteriori quasi del tutto sprovviste di sostanza cromatica, aggrinzate, con nucleo spostato alla periferia, rigonfio, povero di cromatina.

Caso V. — *Corteccia cerebrale.* — Si osservano gli stessi fatti descritti per gli altri casi; la sostanza cromatica è un po' meglio conservata, si nota minor quantità di elementi con spostamento nucleare.

Cervelletto. — Le stesse alterazioni delle cellule del *Purkinje:* però le cellule stesse non sono raggrinzate generalmente e la sostanza cromatica è assai ben conservata tranne che verso il prolungamento.

Midollo allungato. — Si vedono notevoli alterazioni della sostanza cromatica nei vari elementi de'vari gruppi cellulari. Zolle più grandi del normale si ammassano intorno al nucleo nelle cellule dei nuclei del vago e dell'ipoglosso accanto ad altri elementi in cui la sostanza di *Nissl* è molto scarsa e distribuita in finissimi granuli. Si vedono nella nicchia cellulare di cellule con scarsa sostanza cromatica i già descritti elementi neurofagi.

Midollo spinale. — Alterazioni meno accentuate, ma simili a quelle già descritte nei casi precedenti.

Caso VI. — *Corteccia cerebrale.* — Alterazioni della sostanza cromatica di *Nissl* molto accentuate: prevale la distribuzione di una tenue quantità alla periferia dell'elemento o attorno al nucleo, rimanendo quasi incoloro il resto del corpo cellulare. Molti spostamenti nucleari. Notevole infiltrazione perivasale: elementi neurofagi.

Cervelletto. — Moltissime cellule del *Purkinje* notevolmente raggrinzate: grande diminuzione della sostanza cromatica che appare finamente sminuzzata. In qualche cellula, anche molto povera di sostanza di *Nissl*, si trova qualche blocco di forma irregolare. Molti spostamenti nucleari. Infiltrazione leucocitaria lungo il decorso dei vasi.

Midollo allungato. — Gli stessi fatti precedentemente descritti, molto più accentuati. Numerosi spostamenti nucleari. Si vedono alcune cellule rappresentate soltanto da poco protoplasma scolorato attorno a un nucleo ingrossato, vescicolare, con nucleolo intensamente colorito; cellule attorno alle quali si trovano due, tre, quattro neurofagi.

Midollo spinale cervicale. — Elementi assai meglio conservati che non quelli del midollo allungato: però la disposizione della sostanza cromatica è in ogni elemento alterata.

Questo studio citoscopico conferma le precedenti osservazioni dell'*Ewing* e del *Lequel-Levastine.* L'alterazione cellulare più caratt stica è una grande diminuzione della sostanza cromatica, per modo l'*Ewing* descriveva in certe parti del sistema nervoso le cellule *tirely bleached.* Notevoli sono anche gli spostamenti nucleari, le

razioni nucleari, il raggrinzamento, la deformazione del protoplasma, l'invasione delle cellule nervose così deformate da parte delle cellule neurofaghe.

Se si considera che possono esistere abbondanti essudati alla base senza grave sintomatologia basilare, se si considera che la sindrome della meningite tubercolare non è in rapporto nè colla quantità nè colla disposizione di questi essudati perchè talora si trovano paresi, paralisi, spasmi nel campo di nervi cranici senza che all'autopsia si trovino questi nervi lesi dagli essudati in modo speciale, si riferisce più volentieri almeno una parte dei sintomi e precisamente dei sintomi a focolaio a lesioni cellulari avvenute per intossicazione.

In questo concetto ci confermano quei casi del cosiddetto meningismo con ampia sintomatologia, e magari mortali, senza che si siano ritrovate all'autopsia importanti lesioni delle meningi, e soprattutto, questi reperti microscopici, che hanno rivelato alterazioni cellulari diffuse in tutto il sistema nervoso centrale, alterazioni evidentissime nei nuclei bulbari, trovandosi in quei nuclei accanto a cellule poco alterate cellule quasi distrutte. Ciò che non dovrebbe essere se questa alterazione fosse secondaria ad una compressione del nervo corrispondente, se insomma si fosse originata con quel meccanismo che il *Marinescu*, il *Van Gehuchten* ed altri hanno descritto per lesioni portate artificialmente su tronchi nervosi.

Spiegazione delle figure.

Tavola V.

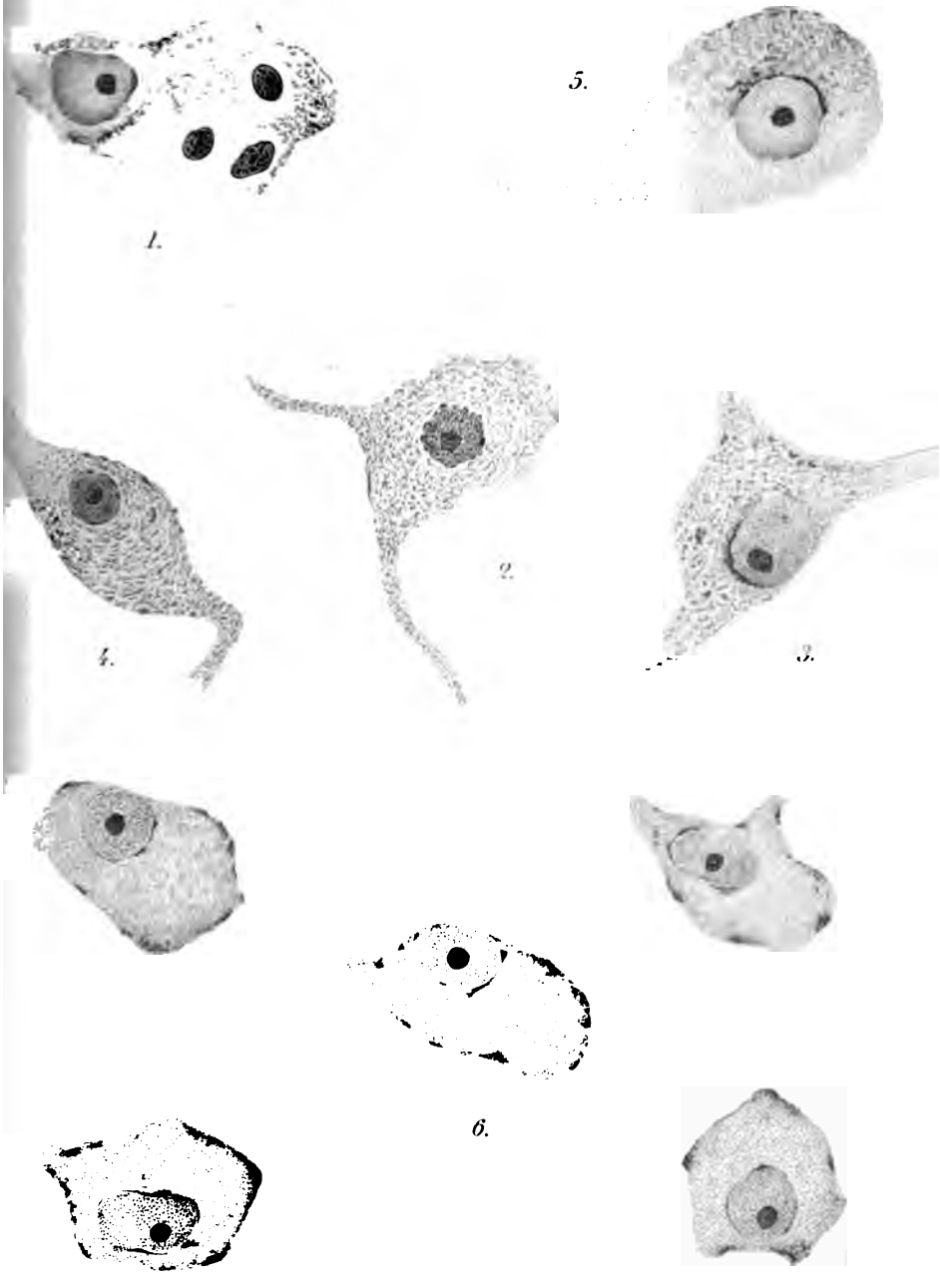
1. — Cellula della corteccia cerebrale (circonvoluzione parietale ascendente) del meningitico V.
5. — Cellula del cervelletto della meningitica IV.
2, 4, 3. — Cellule del cervelletto del meningitico VI.
6. — Cellule del nucleo olivare: meningitico V.

Tavola VI.

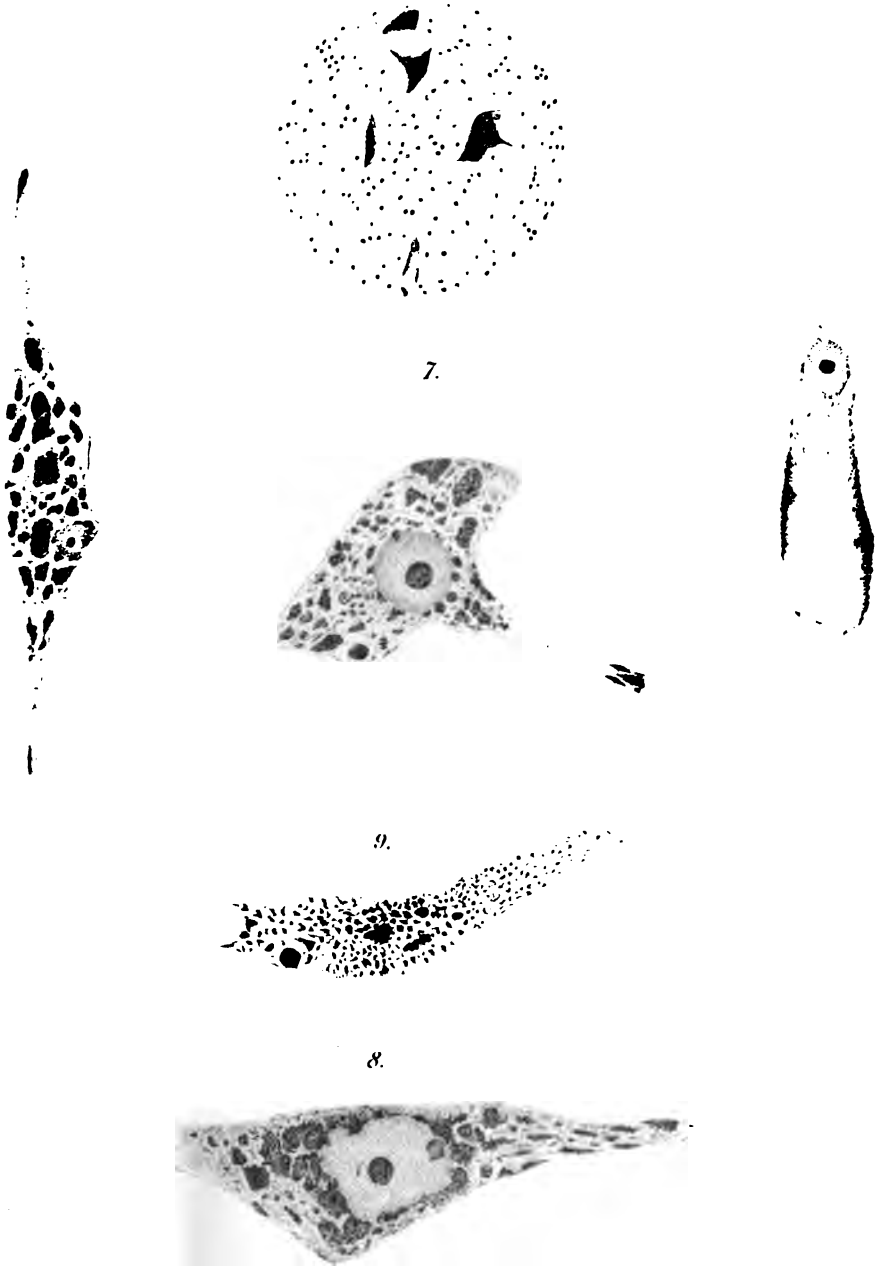
7. — Cellule contigue a piccolo e a forte ingrandimento: midollo allungato del meningitico VI.
8, 9. — Due cellule contigue del nucleo dell'ipoglosso: meningitico VI.

Tavola VII.

10. — Cellula delle corna anteriori del midollo cervicale: meningitico VI.
11, 12, 13. — Cellule delle corna anteriori del midollo cervicale: meningitico V.
14. — Cellula del nucleo dell'ipoglosso: meningitico VI.

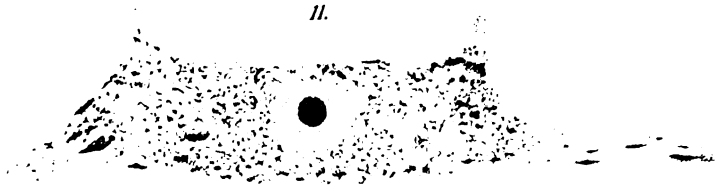


R. Silvestrini — *Note ecc. ecc. sulla meningite tubercolare.*



R. Silvestrini – *Note ecc. ecc. sulla meningite tubercolare.*

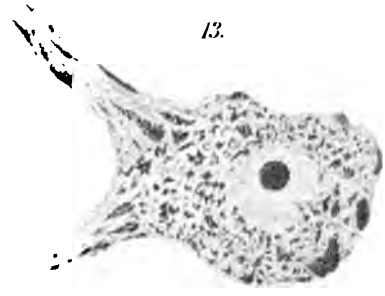
10.



11.

12.

13.



14.

R. Silvestrini – *Note ecc. ecc. sulla meningite tubercolare.*

UN NOVO UREOMETRO

PEL

PROF. G. BUFALINI.

Poichè l'urea nelle orine rappresenta il più abbondante prodotto del catabolismo delle sostanze proteiche, si è pensato colla sua determinazione quantitativa di avere un modo di misurare la disintegrazione interna: ma il dosaggio pratico dell'urea nelle orine, mentre sembra cosa assai facile, offre il più spesso molte difficoltà per la esatta riuscita, tanto per la scelta dell'apparecchio, che per la tecnica nell'eseguire la operazione.

Il vantaggio principale di un ureometro clinico è quello di dare resultati più che sia possibile approssimativi, ma in modo rapido e con poche manipolazioni: invece gli ureometri già adottati hanno in genere un qualche inconveniente, ed esigono precauzioni speciali per evitare le cause di errore. Per esempio, l'ureometro di *Esbach*, che è quello ora più comunemente adoperato, è incomodo ed inesatto, primieramente perchè, anche operando nelle migliori condizioni possibili per ottenere tutto lo sviluppo gazoso, effettuandosi la reazione sotto una forte pressione interna, non solo obbliga a degli sforzi per tener ben chiusa la campanella, ma tende fino ad un certo punto ad opporsi alla scomposizione dell'urea e poi dà logo a perdite quando la campanella medesima si apre sotto acqua per la brusca e rapida uscita del liquido saturato di az che si trova ad una pressione di molto superiore a quella tmosferica.

Gli altri ureometri (ureometro d' *Yvon*, di *Regnard*, di *Thierry*, *Gillet*, *Capranica*, *Barbèra*, *Cavallero*, *Cavazzani*, di *Moreigne*, di *Chassevant*, *Tonzes-Diacon*, di *Southall-Amann*, di *Job*, ecc. ecc.) presentano egualmente dei difetti, o perchè non sono facilmente maneggevoli, o perchè hanno robinetti facili a guastarsi in presenza del reattivo alcalino o perchè son facili ad esser causa di errori per esser graduati in grammi di urea senza tener conto delle variazioni di temperatura e pressione, o per tanti altri motivi.

Fino da varii anni, dovendo nel laboratorio eseguire molto spesso determinazioni di urea, ho notato appunto che con i più noti apparecchi non si ottengono sempre precisi resultati, onde ho cercato già di modificare nel modo possibilmente migliore la tecnica ureometrica. Difatti nel 1897 incaricai il dott. *C. E. Della Torre* (1) di controllare un ureometro che feci costruire colla intenzione di avere un apparecchio esatto per la determinazione clinica dell'urea contenuta nella orina.

Questo ureometro consta di una campanella calibrata e graduata in decimi di centimetro cubo, lunga circa 30 cent. e del diametro interno di 10–12 millimetri. A questa campanella peraltro, di contro al 15° c. c., viene saldato un piccolo tubo di vetro della capacità di circa 3 c. c., comunicante coll' interno della campanella, che addossato alla parete esterna di essa si dirige verso la sua estremità aperta, terminando a perfetto livello.

L' idea di questo ureometro mi venne dalla necessità di dover separare il reattivo dalla orina nel modo il più semplice e di valutare il volume del gaz con la più grande precisione. Difatti questo apparecchio non è altro che una delle comuni campanelle gazometriche che servono in tutti i laboratori per le più esatte determinazioni eudiometriche.

All' ureometro naturalmente trovansi uniti un cilindro di vetro a piede poco più alto della campanella, un bicchier

(1) Della Torre C. E., *Di un nuovo ureometro*. (Annali di chimi farmacologia, n. 5, 1897).

calice capace di contenere 2 chilogr. di mercurio, una pipetta da 10 c. c. ed un' altra da 1 c. c. lunga e sottile, che serve per introdurre l' orina nel tubetto laterale dell' ureometro.

Il modo di operare è il seguente: si riempie di mercurio bene asciutto l' ureometro (previamente asciugato con una corrente di aria) fino a circa la divisione 17, per cui restando separata la comunicazione del piccolo tubo coll'interno della campanella, si hanno così due spazi divisi dal mercurio: si cerca allora di levare con una bacchetta di vetro o di ebonite tutte le bollicine di aria che sono rimaste tra la parete ed il mercurio, quindi si versa nella campanella, nello spazio rimasto vuoto dal mercurio, 8–9 c. c. di reattivo ipobromico e nel piccolo tubo colla pipetta lunga si versa sopra al mercurio 1 c. c. di orina, ed in ultimo si termina di riempire i due tubi con acqua stillata, versata a gocce mediante una pipetta. Ciò fatto, con molta precauzione perchè non si perda del liquido, si chiudono contemporaneamente col pollice l'apertura libera della campanella e quella del tubetto in cui si è già introdotta la orina, si capovolge rapidamente l' ureometro nel bicchiere ripieno di mercurio, avendo cura di fissarlo con una pinza e si lascia quindi svolgere il gaz dalla reazione dell' ipobromito sulla orina che naturalmente per questa manovra si son mescolati nella parte superiore della campanella. Di tanto in tanto si cerca di agitare l' ureometro affinchè la reazione sia completa, e quando si scorge che non si sviluppano più bollicine gazose, ciò che accade dopo una mezza ora circa, si determina il volume del gaz sviluppatosi (che è costituito tutto da azoto perchè l'anidride carbonica [1] resta disciolta nel reattivo alcalino) alla pressione ordinaria. Per rendere questa manovra più semplice, si trasporta l' urometro nel cilindro pieno di acqua, il mercurio allora cadendo al fondo viene sostituito da questa, e si legge il volume dell' azoto livellando il liquido contenuto nell' ureometro stesso al livello dell'acqua del cilindro.

Il trasporto dell' ureometro nell' acqua si può fare sem-

---

[1] La reazione che avviene è la seguente:

$$CO(NH^2)^2 + 3BrONa = 3BrNa + CO^2 + N^2 + 2H^2O.$$

plicemente chiudendo sotto il mercurio col pollice le due aperture della campanella ed immergendola nel cilindro; oppure, come si pratica nel mio laboratorio, passando sotto l'ureometro una piccola vaschetta di ferro fornita di un filo grosso pure di ferro a guisa di manico, entro la quale, ripiena di mercurio, si immerge la campanella e così si trasporta nel cilindro suddetto (1).

Fatta dunque la lettura del volume gazoso in centimetri cubi e in decimi, si nota allora la pressione atmosferica e la temperatura della stanza, e si fa la dovuta correzione riportando a 0° e 760 mm. il volume dell'azoto; la quale correzione si eseguisce sviluppando la nota formula di *Regnault*, e moltiplicando per il noto valore « 2,82 » si ottiene la riduzione dell'azoto in grammi di urea per 1000 c. c. di orina.

Il dott. *Della Torre*, nella memoria citata, ha inserito delle tavole colle quali il calcolo è reso più facile ed alla portata di tutti. Or ora dirò che detto calcolo si può anche renderlo più semplice servendosi di altre tavole redatte dal mio aiuto dott. *E. Filippi* e che ho adottato nel laboratorio per la correzione del volume delle sostanze aeriformi.

L'ureometro ora descritto dà veramente resultati esattissimi quando è manovrato con tutte le cautele, ma disgraziatamente il suo uso non si è diffuso, stante la mancanza della *réclame* oggi in vigore. Se un difetto ha, è quello di esigere una certa quantità di mercurio, che d'altronde si dovrebbe facilmente trovare a disposizione nelle cliniche e negli ospedali, tanto più che oggi ha un valore commerciale molto ribassato. Al mercurio si può sostituire, come liquido divisorio, il cloroformio, e sebbene ad alcuni questa proposta sia sembrata più pratica, pure è da riflettere che il cloroformio non solo costa quanto il mercurio, ed è anche più incomodo.

Intanto qualche tempo fà nel proporre un *nuovo metodo per la determinazione dell'equivalente di riduzione dei tessuti* (2)

---

(1) Del mercurio adoperato non se ne perde punto, perchè lo si coglie tutto, lo si rasciuga e si rimette nel bicchiere.

(2) Archivio di Farmacologia e terapeutica, Palermo 1901.

adottai un certo apparecchio, che l'ho poi convertito in ureometro, la cui descrizione venne già fatta dal mio egregio aiuto dott. *E. Filippi* (¹).

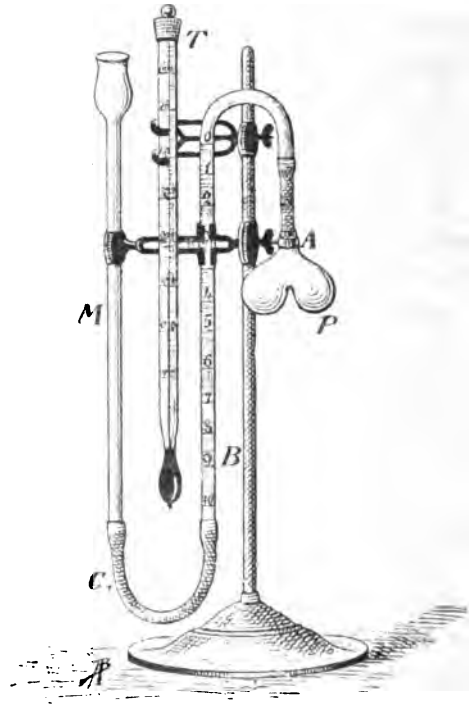
In questo non si fà uso di mercurio, ed è fondato sul principio che *se in un vaso chiuso, munito di un manometro ad aria libera, si produce uno sviluppo di gaz, l'eccesso di pressione misurato è proporzionale al volume del gaz sviluppato, quando non sia cambiata la temperatura.*

Il primo modello, quello già descritto dal dott. *Filippi*, presenta in realtà un inconveniente (al quale ho ora riparato col proporne una modificazione) che consiste nella difficoltà di poter prendere, dopo la reazione dell'ipobromito colla urea, il livello preciso del liquido della bolla per valutare i c. c. di gaz sviluppatisi. Non è altro che un manometro ad acqua, comunicante con un palloncino doppio di vetro, che appunto rappresenta la particolarità del mio ureometro, perchè permette di tener separato l'ipobromito dalla orina in modo più felice che non sia l'ureometro di *Regnard* (col quale ha una certa rassomiglianza), e perchè lo si può agitare facilmente, cosa necessaria per rendere completa tanto la reazione quanto l'assorbimento dell'anidride carbonica che si sviluppa contemporaneamente all'azoto. Un rimprovero fatto a questo mio apparecchio sarebbe quello che deriverebbe dalla differenza di livello delle due colonne, di cui il peso agirebbe sul volume del gaz da misurare; ma siccome è obbligo di endiometria il fare la correzione del volume dei gaz, tale errore è veramente remosso. Ciò nonostante per sormontare l'apatia di qualcuno al mio apparecchio, ho creduto bene di presentare questo stesso ureometro modificato nel senso dei comuni azotometri, per cui credo che costruito come ora lo descriverò, dovrà raggiungere certamente la squisita precisione di un ottimo ureometro clinico.

Questo secondo modello è costituito di una piccola buta B graduata in decimi di c. c., della capacità di circa

(¹) Archivio di Farmacologia e terapeutica, Palermo 1901, e Clinica erna, 1901.

15 c.c. capovolta, alla cui estremità superiore è saldato un tubetto di stretto diametro, della forma di un U rovesciato (∩), il quale alla estremità libera viene unito al solito palloncino doppio P per mezzo di un tubo di caoutchouc



a pareti grosse A, come nel primo apparecchio: l'estremo libero della buretta che guarda in basso e che viene assottigliato alla lampada è pure unito col mezzo di un tubo di caoutchouc C ad un altro tubo di vetro M lungo e tenuto parallelo alla buretta graduata per mezzo di una doppia pinza sostenuta da un supporto, e che serve per prend esattamente il livello del liquido della buretta per deter nare il volume del gaz che si è sviluppato. Congegnatc questo modo, la pressione interna dell'apparecchio divi

uguale alla pressione atmosferica tanto avanti che dopo la reazione.

Il modo di metterlo in funzione è semplicissimo: prima di tutto si riempie l'ureometro con acqua fino al livello dello 0 della buretta, poi si carica il palloncino versandovi con una pipetta da una parte 10 c. c. di reattivo (ipobromito) e dall'altra 1 c. c. di orina, e quindi lo si imbocca nel tappo di caoutchouc fortemente in modo che si abbia una chiusura perfetta più che sia possibile e che si può rendere più sicura ingessando: si ha così una camera chiusa comunicante con un manometro ad aria libera e a doppia branca. Alzando od abbassando secondo il caso il tubo non graduato si stabilisce il livello dell'acqua nelle due branche del detto manometro, e si prende nota del numero dei c. c. e frazioni cui arriva l'acqua nella buretta graduata: si aspetta un po' di tempo perchè si sia messo tutto l'apparecchio in esatto equilibrio colla temperatura ambiente, e quando si scorge che il livello nella buretta non subisce più modificazioni, si provoca la reazione dell'ipobromito sulla orina inclinando a destra e a sinistra il palloncino ed agitando moderatamente in modo da rimescolare i due liquidi.

Apppena terminato lo sviluppo del gaz, il che si giudica dalla mancanza di bollicine nel liquido dei due palloncini, e, lasciato per un po' di tempo a sè l'apparecchio, perchè al solito il volume gazoso si ponga in equilibrio esatto colla temperatura ambiente, si abbassa il tubo non graduato fino al livello dell'acqua della buretta, si legge il numero dei c.c. e frazioni, si sottrae dalla prima cifra questa ultima e si ottiene così il volume di azoto, alla pressione e temperatura dell'ambiente, che si è sviluppato da 1 c. c. dell'orina esaminata.

Poichè è noto quanta influenza eserciti sul volume dell'azoto sviluppato una variazione di temperatura tra il principio e la fine della determinazione ureometrica, è bene avvertire che queste ricerche devono esser fatte in una stanza fredda, a temperatura pressochè costante, per non dover ricorrere alla incomoda immersione dell'ureometro nell'acqua avanti

di fare la prima e la seconda lettura del volume gazoso: però ho trovato modo di eliminare le oscillazioni della temperatura dell'ambiente che circonda l'apparecchio, e che fanno tanto facilmente variare il volume del gaz, mettendo davanti all'ureometro una lastra di vetro sostenuta da un telaio di legno con piede, o tenendo l'apparecchio dentro un'urna di vetro. Comunque la cosa più interessante è la correzione del volume letto, ossia ridurlo a 0 e a 760 mm. di pressione; e questa si fa sviluppando o la nota formula del *Regnault*, o con le tavole di *Lunge* o con quelle presentate dal dott. *Della Torre* a proposito del mio ureometro a mercurio (1), o piu sollecitamente per mezzo di quelle del dott. *Filippi* (2), i cui valori son calcolati con la formula:

$$V = V^t \times \frac{H - f}{(1 + \alpha t)\, 760}$$

Queste tavole, che rendono veramente un ottimo servizio abbreviando di molto il calcolo, si adoperano come la tavola pitagorica, ossia leggendo il valore che trovasi al punto d'incontro della linea della temperatura colla colonna delle pressioni, onde basta moltiplicare il volume letto alla temperatura e pressione dell'ambiente col numero trovato nella suddetta tavola per avere il volume del gaz ridotto a 0 e 760 mm.

Corretto adunque il volume del gaz, è necessario poi fare un piccolo calcolo per desumerne la quantità corrispondente di urea contenuta nella orina esaminata.

Siccome 1 grammo di urea coll'ipobromito sodico svolge soltanto c. c. 354,33 di azoto (volume corretto a 0 e 760 mm.), in luogo di c. c. 371,37 come teoricamente dovrebbe dare 1 grammo di urea, perchè una parte dell'azoto ureico per la detta reazione viene trasformato in nitrato ed in cianato alcalino ed in altri composti azotati di natura indeterminata (*Fauconnier*, *Fenton* e *Foster*); così per trasformare il volume

(1) Annali di chimica e farmacologia, n. 5, 1897.

(2) Clinica moderna, n. 30, 1901 e Archivio di farmacologia e terapeutica, fasc. 10-11, 1901.

di azoto, già letto e corretto, in grammi di urea si fa la seguente proporzione, in cui V rappresenta il volume di azoto ridotto a 0 e 760 mm. che si è svolto da 1 c. c. dell'orina in esame ed U la quantità corrispondente di urea, onde avremo:

$$354,33 : 1 :: V : U$$

ossia:

$$U = \frac{1 \times V}{354,33}$$

Naturalmente il numero che si ottiene va poi riportato a mille per avere la quantità di urea contenuta in un litro di orina.

Questo calcolo può essere del resto molto più semplicizzato, conoscendo che 1 c. c. di N a 0 e 760 mm. corrisponde esattamente a gr. 0,00268 di urea; ma siccome coll'ipobromito non possiamo ottenere tutto l'azoto ureico, così moltiplicando invece i c. c. di N ottenuti per 0,00282 si avrà in grammi l'equivalente di urea, oppure moltiplicando addirittura per 2,82 si otterrà, ugualmente in grammi, la quantità di urea contenuta in 1000 c. c. di orina.

Non sto pertanto ad insistere per dire che questo ureometro semplicissimo e di facile maneggio, dà sempre quando si osservano le cautele già raccomandate, ottimi resultati, come difatti ho dedotto da molte analisi fatte con soluzioni recenti di urea pura, disseccata nel vuoto sopra acido solforico, dalle quali ho appunto ottenuto, operando con 1 centigrammo di urea, cifre quasi esatte (c. c. 3,56-3,54-3,52 di azoto [1]).

Pertanto la esattezza dell'ureometro da me proposto sta certamente nell'osservare, oltre le cautele già più sopra indicate, anche le seguenti: 1° che il tubo di raccordo (A) ed il tappo di caoutchouc siano ben saldati ai respettivi tubi di vetro col mezzo di colla di guttapercka e legati con filo a più i e che la chiusura del palloncino col tappo di gomma sia gari assicurata con un po' di gesso forte; 2° che sia evi-

[1] Alla semplice lettura sulla buretta non si può avere che i decimi c.c., ma le altre cifre decimali si ottengono in seguito alla correzione.

tata più che sarà possibile ogni variazione tra la temperatura iniziale e finale della esperienza tenendo, durante la manovra analitica, l'apparecchio entro un'urna di vetro o riparato con dei cristalli intelaiati sopra un piede di legno, in guisa che il gazogeno ed il gazometro trovandosi rinchiusi entro il medesimo ambiente ristretto, siano così sottratti ad ogni influenza circostante. E siccome per la reazione sviluppasi sempre nel gazogeno una certa quantità di calore capace di alterare la temperatura iniziale, basterà nonostante attendere un po' di tempo affinchè la temperatura si sia equilibrata in tutto l'apparecchio, purchè non si adotti la pratica di aggiungere il glucosio al mezzo reagente allo scopo inutile di avere tutto l'azoto dell'urea e di impedire, col maggiore sviluppo di calore, che un po' di azoto rimanga disciolto nel liquido.

A proposito di questa pratica, di aggiungere, cioè, alla urea o all'orina del glucosio (1 c. c. di soluzione di glucosio purissimo al 25 °/₀), già proposta da *Méhu* (1), confermata da *Jacobi* (2), da *Luther* (3), da *Moreigne* (4) e da altri e combattuta prima da *Esbach* (5) e poi recentemente da *Garnier* e *Michel* (6), per esperienze proprie posso dire che è perfettamente superflua, perchè, sebbene l'aggiunta di glucosio all'urea aumenti un po' lo sviluppo di azoto, pure non dà mai tutto l'azoto teorico contenuto nella sua molecola, e siccome nelle determinazioni cliniche si è ormai abituati a calcolare l'urea col coefficiente empirico « 354,33 », se si cercasse con artifizi di avere tutto l'azoto teorico « 371,37 », si incorrerebbe in notevoli divergenze di resultati: per di più è anche superflua perchè tanto è provato che il glucosio aggiunto all'urea se per la reazione dell'ipobromito impedisce la formazione dell'acido

(1) Méhu, Compt. rendus, Acad. scienc. de Paris, 1879; Bull. de la Soc. chim. de Paris, 1879; Bull. de Thérap. 1879. *L'urine normale et pathologique*, Paris, 1880.

(2) Jacobi, Zeitsch. f. phys. Chem., 1885.

(3) Luther, Zeitsch. f. phys. Chem., 1889.

(4) Moreigne, Journ. de Pharm. et Chimie, 1898.

(5) Esbach, Journ. de connais. méd., 1879.

(6) Garnier e Michel, Journ. de Pharm. et Chimie, 1900.

nitrico (*Fauconnier* [1]) non basta ad inibire quella dell'acido cianico e di altri composti azotati (*Luther* [2]) che ha luogo durante la scomposizione della urea col reattivo ipobromico medesimo.

D'altra parte poi questa addizione del glucosio è anzi veramente dannosa; in primo luogo perchè, trattandosi di un apparecchio a camera ad aria, ogni aumento di temperatura dopo la reazione potrebbe dar luogo ad un maggiore aumento del volume gazoso (mescolanza di aria e di azoto) da cui deriverebbe un errore nella valutazione dell'azoto sviluppato, sebbene abbia prevenuto codesto inconveniente col costruire nel mio ureometro una camera di capacità molto piccola (c.c. 50 circa). In secondo luogo perchè obbliga ad adoprare una più notevole dose di ipobromito (una parte dovendo servire per ossidare il glucosio) o un reattivo più carico di bromo [3] e quindi anche perchè, sviluppandosi nell'apparecchio una eccessiva quantità di calore, esige che si aspetti molto tempo per fare la lettura del volume gazoso, dovendo esso riprendere la temperatura iniziale o quasi.

Oltracciò il mio ureometro presenta anche il vantaggio di non impegnare per molto tempo la persona che fa l'analisi, quantunque per la operazione si impieghi quasi un'orá, giacchè l'apparecchio funzionando da sè non richiede altro che di osservare quando il volume del gaz rimane costante.

In ogni modo e qualunque sia l'ureometro ad ipobromito adottato, è necessario fare altre utilissime avvertenze parti-

---

(1) Fauconnier, Bull. de la Soc. chim. de Paris, 1880.

(2) Luther, Zeitsch. f. Phys. Chem., 1889.

(3) Il reattivo adoprato da *Méhu* è il seguente e press'a poco simile a quello adottato da *Moreigne*, il quale segue egualmente la pratica del glucosio:

Acqua distillata	100 c.c
Liscivia di soda	100 c.c.
Bromo.....	10 c.c.

Quindi per l'aggiunta del glucosio mentre viene a diminuire il rapporto del bromo alla soda, non sappiamo precisamente quanto sia grande questa diminuzione variando il potere decomponente dell'ipobromito colla quantità di zucchero addizionato.

colarmente riguardo al reattivo ipobromico ed alla depurazione della orina da analizzare.

Foster (1) pel primo aveva osservato che impiegando una soluzione di idrato sodico molto concentrata si poteva ottenere fino il 98 °/₀ dell'azoto totale dell'urea: ciò che venne confermato in seguito anche da *Quinquaud* (2). *Yvon* (3) pure aveva notato che la quantità di azoto sviluppato dipende dai rapporti di soda e di bromo nel reattivo ipobromico, onde si vede che debbono esistere delle condizioni che influiscono sul volume del gaz sviluppato per la reazione dell'ipobromito di sodio sopra la urea e che si riferiscono alla proporzione del bromo ed alla concentrazione del reattivo medesimo. Infatti *Quinquaud* facendo variare la quantità di bromo nel reattivo ottenne dei volumi di azoto diversi, come scorgesi nel quadro seguente, il quale spiega primieramente la divergenza dei resultati ottenuti da vari sperimentatori e poi come sia necessario tenere un certo rapporto tra le proporzioni di soda e di bromo nella preparazione del reattivo ipobromico:

					N sviluppato da gr. 0,01 di urea
A.	Acqua still. c.c. 100				
	Liscivia a 1,33,	c.c. 20	+ c.c. 2	Br.	c.c. 3,22
B.	»	»	+ c.c. 1	»	c.c. 3,41
C.	»	»	+ c.c. 0,7	»	c.c. 3,49
D.	»	»	+ c.c. 0,6	»	c.c. 3,56
E.	»	»	+ c.c. 0,5	»	c.c. 3,50
F.	»	»	+ c.c. 0,4	»	c.c. 3,18

Quanto alla concentrazione, è da notarsi, come resulta dalle numerose ricerche dello stesso *Quinquaud*, che più che è concentrato il reattivo, più è la quantità di azoto sviluppato dall'urea, e tanto da assicurarne la più completa scomposizione fino ad ottenere oltre c.c. 3,54 di N da gr. 0,01 di urea:

(1) Foster, Journ. of the Chem. Soc. 1878.
(2) Quinquaud, *Traité tecnique de Chimie biologique*, Paris, 1883.
(3) Yvon, *Sur la composition des hypobromites alcalins pour le dosag l'urée.* (Journal de Pharm. et de Chimie, 1881).

infatti esperienze comparative dimostrano che la soluzione « *Acqua still. 300 c.c., liscivia 100 c.c. con 3 c.c. di Br.* » non dà più di c.c. 3,56 di N, mentre quella « *Liscivia 100 c.c. con 3 c.c. di Br.* » può dare fino a c.c. 3,69 di N da 1 centigrammo di urea.

A questo proposito debbo pertanto far notare che nelle determinazioni col mio ureometro si deve preferire questa seconda soluzione, non mica per avere il maggiore sviluppo di azoto, perchè clinicamente si calcola sempre la urea col coefficiente 354,33, ma invece per agire con un liquido molto alcalino allo scopo di assicurare così il completo assorbimento dell'anidride carbonica che si svolge durante la reazione.

Ma siccome con questo reattivo, ed anche con altri consimili, oltre la urea si scompongono altre sostanze azotate solite a trovarsi nelle orine (acido urico, creatinina, leucomaine, sali ammoniacali, medicamenti contenenti azoto, ecc.), che egualmente sviluppano azoto, quando si fa una determinazione ureometrica bisogna eliminare dall'orina coteste sostanze, altrimenti non avendo distinto l'azoto ureico si incorre in resultati controversi che poi sono la causa della discordanza di opinioni che pur troppo spesso si verifica, in guisa che ciò che viene attribuito alla urea è invece dovuto ad altri materiali azotati dell'orina. Infatti trattata la orina direttamente coll'ipobromito dà una quantità di azoto che si ravvicina molto all'azoto totale, eccesso che è appunto dovuto alla presenza di tante altre sostanze azotate che si decompongono in parte o in tutto sotto la influenza di codesto reattivo. Per conseguenza urge sempre depurare l'orina prima di fare una determinazione ureometrica, e perciò consiglio, come già si pratica da molto tempo nel laboratorio, non il metodo assai noto di *Mörner* e *Sjöqwist*, ma quello di *Moreigne* (1), o semplicemente il processo indicato da *Guillemard* (2), a preferenza di quello comune del sotto-acetato di piombo, il quale non

(1) Moreigne, Journ. de Pharm. et Chimie, t. VIII, 1898.
(2) Guillemard, Comptes rendu de l'Acad. des Sciences de Paris, in, 1901.

elimina certi alcaloidi che possono di frequente trovarsi nelle orine, come non precipita completamente i sali ammoniacali e la creatinina [1].

Dunque la separazione dell'urea dalle altre sostanze azotate, secondo *Moreigne*, vien fatta per mezzo dell'acido fosfotungstico, come egualmente era stato già proposto da *Pflüger* e *Bleibtreu*, e consiste nell'aggiungere a 10 c.c. di orina previamente acidulata con 1 c.c. di acido cloridrico puro, 15 o 20 c.c. del reattivo (soluzione di acido fosfotungstico al decimo) e lasciare a sè per 24 ore. Si prelevano allora con una pipetta 2–3 c.c. del liquido limpido a cui si aggiunge un'eguale porzione di soluzione fosfotungstica: se la precipitazione fu completa non si avrà nulla, altrimenti si verserà in tutta la orina di nuovo un po' di soluzione fosfotungstica, chè se è anche in eccesso non darà luogo ad alcun inconveniente. Certamente il liquido che è stato prelevato per il detto saggio verrà tutto riversato nell'orina, poi la si diluisce un poco e si filtra: il liquido filtrato, di color violetto pallido, si neutralizza con qualche goccia di idrato sodico in presenza di fenolftaleina, si porta al volume di 50 c.c., per cui se ne prendono poi 5 c.c. (equivalenti ad 1 c.c. di orina) per farne la determinazione ureometrica. Si avverta che quel colore azzurrognolo preso dal liquido è dovuto ad alcune tracce di acido urico rimasto disciolto.

Moreigne frattanto consiglia di assicurarsi con una semplice prova che il reattivo fosfotungstico non sia precipitato con una soluzione acidulata di urea pura (0,20 %); invece *Chassevant* ha osservato che è soltanto nel caso che l'orina ne contenga più del 20 ‰ che si potrebbe averne col detto reattivo la precipitazione di una parte dell'urea allo stato di fosfotungstato, facile però a ridisciogliersi diluendo l'orina con un po' di acqua stillata. Quindi di regola se si tratta di orina

[1] Per depurare in questo modo l'orina se ne precipitano 10 c.c. acetato basico di piombo, si fa appena bollire, si filtra e poi si precipit piombo in eccesso con 2-3 grammi di carbonato sodico cristallizzato; filtra di nuovo, si lava il precipitato e si riporta il liquido filtrato al volu di 50 c. c., di cui 5 c.c. rappresentano 1 c.c. d'orina.

carica di urea, prima di depurarla coll'acido fosfotungstico, dovrà essere diluita per la metà.

Tutto questo l'ho detto per far conoscere che la determinazione clinica della urea, anche per ottenere dei dati approssimativi, esige sempre di osservare molte e molte cautele, trascurando le quali non si avrebbe più una giusta misura del consumo proteico.

Laboratorio di Materia medica di Firenze. Giugno 1908.

(Clinica medica generale del R. Istituto superiore di Firenze
diretta dal Prof. P. Grocco).

DOTT. LUIGI SICILIANO.

SULLA DISTRIBUZIONE DELLA TEMPERATURA PERIFERICA

NEL CADAVERE.

(Con tre tavole in zincotipia).

L'argomento delle temperature periferiche locali ha richiamato di quando in quando l'attenzione generale, specialmente in seguito ai risultati ottenuti da alcuni osservatori, che si credettero autorizzati a farne un metodo di indagine clinica, proponendolo accanto agli altri già conosciuti come un nuovo ausilio diagnostico, capace di svelare e caratterizzare delle affezioni in casi, dove i comuni mezzi fisici non erano sufficienti a farlo.

A lasciarsi trascinare ciecamente da cotesti entusiasmi si sarebbe effettivamente in possesso di un mezzo, che ci permette d'apprezzare le condizioni termiche degli organi e tessuti celati nelle cavità del corpo, desumendole da differenze di temperatura riscontrate alla superficie cutanea: l'irradiazione termica di un dato focolaio morboso modificherebbe la temperatura superficiale, e in questo cambiamento noi avremmo l'indice dell'attività del processo, che si svolge nel profondo dei tessuti.

Fra le malattie degli organi toracici sono state studiate sotto questo aspetto principalmente la tubercolosi polmonare polmonite, la pleurite; tra le addominali l'infezione tifoide peritonite, i tumori gastrici. La termometria cutanea è s' poi estesa alle malattie del pericardio e del cuore; ha se-

finanche per la diagnosi differenziale tra emorragia ed embolia cerebrale. Si è arrivati all'esagerazione di pretendere che il termometro, applicato sulla pelle del torace, possa servire a delimitare il contorno di una caverna polmonare!

La letteratura dell'argomento è oltremodo copiosa: sono stati scritti addirittura dei trattati sulle temperature locali, ed è appunto nel volume del *Redard* (1) che troviamo raccolte tutte le osservazioni dei precedenti autori, e che esiste completa la bibliografia fino al 1885.

Nel leggere quel libro però si resta piuttosto sconfortati: l'A. espone, accanto alle conclusioni degli entusiasti, tra cui primo il *Peter*, tutte le incertezze dei dati trovati da lui stesso e da molti altri. Si resta coll'impressione che qualche cosa di vero ci sia effettivamente, ma non costante, non di facile interpretazione, nè tanto meno di utile applicazione.

Non credo necessario di citare tutti i lavori in proposito, essendo il soggetto delle mie ricerche simile, ma non identico a quello degli altri: ne rammenterò alcuni, mano mano che mi si offrirà l'occasione.

Lo scoglio principale, nel quale si imbatte inevitabilmente chi prende a occuparsi di tale argomento, è quello delle variazioni di temperatura della cute, riferibili alla instabilità della sua circolazione sanguigna. Ciò nuoce senza dubbio allo scopo finale, di apprezzare cioè attraverso la pelle le differenze termiche degli organi toracici e addominali, tanto peggio poi quando si pensi che qualsiasi applicazione fatta sulla pelle è capace di modificare per sè lo stato dell'irrigazione sanguigna.

In vista di tale difficoltà ho creduto conveniente istituire delle osservazioni sui cadaveri, lasciando trascorrere il minor tempo possibile dopo la morte. *A priori* era questo l'espediente migliore per farsi un'idea dell'importanza da attribuire alla termometria cutanea: nel cadavere troviamo delle condizioni molto più semplici, che ci permettono di analizzare meglio i fatti. Il rivestimento cutaneo non rappresenta

(1) Redard, *Traité de thermométrie médicale*. Paris, 1885.

oramai che uno strato indifferente, attraverso cui si compie la dispersione di calore dall'interno del corpo, quella condizione ideale, che invano noi cerchiamo nel vivo; nessun'altra preoccupazione ci incombe che quella di guarentirci contro gli errori di apprezzamento, a cui ci espone il raffreddarsi abbastanza rapido del cadavere, il che tanto più ci disturba in quanto si tratta di procedere per via di determinazioni comparative e successive.

In questo genere di ricerche la scelta del metodo ha un'importanza tutta speciale: si può dire, senza esagerare, che i risultati cambiano col metodo adoperato.

Sono stati usati ora i termometri ed ora le coppie termoelettriche. La critica della tecnica della termometria è stata fatta ripetutamente: contro l'uso del termometro si è detto che esso sottrae calore alla parte esplorata, mediante il suo serbatoio di mercurio, che impiega troppo tempo prima di livellarsi colla temperatura della parte; secondo il modo con cui viene applicato, diverse obbiezioni si presentano: così, se si lascia scoperto il bulbo, e questo andrà soggetto all'irradiazione in quella parte, che non è a contatto col corpo, non permettendo alla colonna termometrica di segnare il vero valore della temperatura cutanea; se si copre con mezzi coibenti, si viene a creare un ambiente chiuso, dove la temperatura si eleva per l'impedita irradiazione della regione presa in esame.

Dal momento che noi domandiamo la temperatura periferica della pelle bisogna, prima di tutto, badare a non disturbare in nessun modo la dispersione termica di essa, uno degli elementi principalissimi, da cui dipende la temperatura stessa. Per queste ragioni molti hanno abbandonato il termometro per servirsi delle coppie termo-elettriche, manifestando i loro dubbi intorno all'esattezza dei risultati ottenuti da quegli sperimentatori, che proteggevano il bulbo del termometro con uno strato di ovatta, mantenendolo a contatto della pelle direttamente per mezzo delle mani.

Ma d'altra parte, anche in lavori recenti (*Massalong Silvestri* [1]), gli autori che si sono serviti del termometro,

---

[1] Massalongo e Silvestri, Il Policlinico, 1899.

plicato in tal modo, insistono dicendo che essi hanno avuto per iscopo di rendere paragonabili la temperatura ascellare e quella della superficie del corpo, cosa che è solo possibile fare, riducendo la pelle della regione in esame anch'essa ad una cavità chiusa. Vedremo alla fine se sia giustificabile questo principio. Facciamo solo notare per ora che non è esatto considerare i dati così ottenuti come quelli indicanti la temperatura periferica; dovremmo allora allo stesso titolo chiamare periferica la temperatura ascellare, mentre sappiamo che questa si avvicina sensibilmente al valore della temperatura centrale. Che giustifichi il nome di periferica non troviamo altro che il punto, dove essa vien determinata, ma non mostreremmo di avere un concetto esatto di ciò che è temperatura periferica o cutanea, continuando con questa nomenclatura, senza prima intenderci. Riservando così il nome di periferica o cutanea alla temperatura vera della pelle, quella cioè che è il risultato del rapporto tra la quantità di calore fornita dall'interno e la quantità ceduta all'esterno in un dato momento, preferiamo chiamare quell'altra col termine generico di temperatura locale dell'addome, del torace, ecc.

Non ci sembrerà ora più così strano che alcuni abbiano trovato la temperatura locale di qualche regione superiore a quella ascellare: lo *Schwarz* (1), che trovò spesso nella febbre una temperatura periferica più elevata che quella ascellare, intendeva come periferica la temperatura misurata tra le dita del piede. Secondo il *Peter* (2) la temperatura periferica nelle peritoniti tubercolari è maggiore che l'ascellare; il *Le Roy de Langevinière* (3) trovò la temperatura all'epigastrio maggiore che all'ascella nei malati di ulcera rotonda; il *Basevi* (4), adoperando sempre il termometro, trovò lo stesso fatto in un caso di carcinoma gastrico, il *Sarda* (5) nella pericardite, *Massa-*

(1) Schwarz, Arch. f. klin. Medicin, Bd. 38, S. 318.
(2) Peter, Gaz. hebd. de méd. et de chir., 1879.
(3) Le Roy de Langevinière, Revue des sciences médicales, 1888.
(4) Basevi, Gazz. degli Ospedali, 1887.
(5) Sarda, citato nell'art. *Thermométrie médicale*, nel Dict. encycl. des sciences médicales.

longo e *Silvestri* [1] in varie malattie dell'addome. In tutti questi casi non si trattava di vera temperatura cutanea, perchè gli osservatori non si mettevano nelle condizioni richieste: non si comprenderebbe in nessun modo che la temperatura periferica, nel vero senso della parola, possa essere superiore alla temperatura ascellare.

Ora, volendo io ottenere il valore reale della temperatura cutanea ed essendo il termometro uno strumento che si presta poco bene a questo scopo, ho dovuto dare la preferenza ad un apparecchio termo-elettrico.

Ho adoperato un modello simile a quello proposto da *Hankel* [2]: una saldatura metallica di piccole dimensioni, montata su un dischetto d'ebanite del diametro di circa 1.5 cm. I due fili, di ferro e di costantano, decorrono nello spessore dei dischetti (ciascuno dei quali è costituito da due elementi saldati fra loro con mastice), e vengono a contatto solo su una delle facce, mediante una saldatura. Un filo di costantano, lungo circa un metro, va da un dischetto all'altro; i fili di ferro vanno a due serrafili, dove d'altra parte sono fissati i due fili di rame provenienti dal galvanometro.

Il galvanometro, da me adoperato, era del tipo d'Arsonval, a riflessione, con bobina mobile, a resistenza interna molto piccola. I due contatti, ferro e rame, erano tenuti molto vicini l'uno all'altro e protetti da eventuali cambiamenti di temperatura, che potessero influire diversamente su di essi. Su di una scala graduata leggevo le deviazioni dell'immagine di un filo incandescente (di una comune lampadina elettrica), riflessa dallo specchio del galvanometro.

Per mezzo di un commutatore era possibile far deviare lo specchio sempre da uno stesso lato della scala, e ciò per ottenere una maggiore esattezza, trattandosi sempre di dati comparativi. Precedentemente avevo avuto cura di graduare la scala, immergendo i due dischetti (chiusi a loro volta in due provette di vetro) in due serbatoi d'acqua a temperatura i-

(1) Massalongo e Silvestri, ved. sopra.
(2) Hankel, Arch. der Heilkunde, 1873, t. XIV.

versa, contemporaneamente a due esattissimi termometri, controllati prima.

I dischetti hanno il vantaggio di potere essere applicati sia sotto l' ascella che alla superficie del corpo, dove si lasciano facilmente fissare con una sottile listerella di sparadrappo gommato. Le saldature, essendo piccole, assumono rapidamente la temperatura della parte con cui sono a contatto: la lettura si può fare al massimo dopo 5 minuti dall' applicazione.

La piccola superficie del dischetto non altera considerevolmente la irradiazione della parte; tuttavia mi son dovuto convincere che si è ancora lontani dall' aver raggiunto la perfezione: basta infatti che uno dei dischetti si adatti meno perfettamente alla superficie cutanea, perchè varino notevolmente i risultati, e queste imperfezioni sono poi moltiplicate dalla squisita sensibilità dell' apparecchio.

Eseguivo sia delle determinazioni comparative tra due punti, per lo più simmetrici, sia delle determinazioni assolute, mettendo una delle saldature nella cavità ascellare ben chiusa insieme con un sensibile termometro: dalla differenza di temperatura tra i due punti deducevo la temperatura assoluta del punto periferico. I vari punti del torace e dell' addome erano scelti con un certo criterio mediante la percussione e controllati poi in ogni caso all' autopsia. Una prima serie di determinazioni veniva eseguita durante le prime ore dopo la morte, un' altra da 5 a 10 ore dopo [1].

Il quesito più importante domandato dalla clinica alla termometria locale è stato quello di sapere, se nel territorio cutaneo soprastante ad un focolaio infiammatorio esistesse un aumento corrispondente di temperatura, in modo così da po-

---

[1] Nel compilare le tavole, onde avere sott' occhio, in uno sguardo complessivo, la distribuzione della temperatura nelle varie regioni, sono stato costretto a correggere i valori trovati direttamente, allo scopo di avvicinarmi il più possibile a' risultati che avrei ottenuto, se le osservazioni fossero state fatte tutte allo stesso momento: servendomi dei dati di due rie successive d' osservazioni, calcolavo approssimativamente la perdita i calore subita da ciascun punto nell' unità di tempo, e in base a questa fra correggevo il valore fornito dall' apparecchio, aggiungendo a ciascun ato quel tanto, che corrispondeva al tempo trascorso tra una determinaone e l' altra.

ter differenziare, per questo solo fatto, un' affezione infiammatoria, infettiva da altra di diversa natura.

Bisogna distinguere il caso, in cui il focolaio morboso sia a immediato contatto con la pelle (senza che questa partecipi direttamente al processo) da quello in cui tra esso e la pelle esista uno strato di tessuti sani: nel primo caso sono tutti d' accordo che a livello dell'affezione la temperatura cutanea è più elevata che su un punto simmetrico del corpo, come è di osservazione comune negli ascessi, nelle adeniti, nelle artriti, ecc.

Il campo è invece diviso laddove si tratti del secondo caso: si è affermato che dal lato del focolaio morboso, localizzato in una delle cavità del corpo, esiste una dispersione di calore più attiva che dal lato opposto, ma si è aggiunto anche da altri che questo fatto non costituisce la regola. Ammessa la realtà del fenomeno, era importante poi sapere, se effettivamente il focolaio infettivo fosse più caldo, perchè centro di produzione termica, come sostenne il *Peter*, ovvero se l' aumento di temperatura periferica fosse dovuto ad azioni vaso-motorie cutanee, magari in dipendenza col focolaio stesso. Se dal lato pratico tale questione è di poco interesse, perchè il risultato termometrico sarebbe sempre lo stesso, tuttavia il risolverla in un modo o nell' altro muterebbe il nostro concetto sul valore da attribuire alle ipertermie locali.

I sostenitori del primo modo di vedere non si trovavano certo in disaccordo colla teoria, purchè non cadessero nell' esagerazione di riguardare anche gli aumenti della temperatura centrale come una conseguenza delle ipertemie locali; la temperatura del sangue, che esce da un organo infiammato, e quindi la temperatura dell'organo stesso deve teoricamente superare la temperatura del sangue arterioso che vi si distribuisce, in grado più sensibile di quanto avviene fisiologicamente.

Venendo però ai dati dell' osservazione, non tutti hanno potuto ottenere la verificazione sperimentale di questa ver[illegible] il *Redard* con altri afferma che mai la temperatura di focolaio infiammatorio si eleva al disopra di quella gene[illegible] centrale dell'organismo; di conseguenza egli e con lui m[illegible]

altri tanto meno ammettono la possibilità che una ipertermia locale al di sopra di un focolaio morboso costituisca la manifestazione esterna dell' attività termica di questo.

Per i casi, nei quali l' ipertermia non si può disconoscere, bastano, secondo loro, a spiegarla le condizioni della circolazione cutanea; difatti l' aumento di calore non è limitato ad una regione ben definita in rapporto coll' organo centrale, ma si estende a tutta la metà omonima del tronco, compresi gli arti. Questo fatto starebbe più per un' azione nervosa vasomotrice, anzichè per un fatto fisico di trasmissione termica.

Solo le ricerche nel cadavere possono metterci in grado di rispondere a questo quesito: ivi tutte le condizioni dovrebbero essere favorevoli a mettere in rilievo il fenomeno, tanto più che la termogenesi in un focolaio infettivo non cessa subito col cessare della vita dell' individuo.

Prima ancora però di andare diritti alla risoluzione di questo problema, bisogna stabilire quali leggi regolino il raffreddamento cadaverico, quale sia la normale topografia termica del cadavere. Poco ho trovato nella letteratura su questo argomento di interesse esclusivamente medico-legale: esistono studî accurati sulla rapidità del raffreddamento in rapporto colle varie malattie, colle modalità della morte, ecc., ma sulla distribuzione è detto solo che l' epigastrio si mantiene il posto più caldo di tutta la superficie cutanea, superando, per il grado di calore conservato, anche l' ascella.

La temperatura assoluta della pelle sta in rapporto stretto colla temperatura esterna, con quella del corpo al momento della morte, col tempo decorso dalla morte, coi mezzi da cui è protetto il cadavere: segue all' ingrosso una curva discendente, non parallela a quella seguita dalla temperatura ascellare, poichè quest' ultima decresce più rapidamente, pur essendo il cavo ascellare protetto dal diretto contatto dell' aria.

Questo fenomeno talvolta si esagera al punto da rendere temperatura ascellare più bassa di quella periferica; ho riontrato ciò in due casi, una volta in presenza di un' abbonnte raccolta intra-peritoneale e un' altra al disopra di un more maligno del fegato.

È necessario che c' intratteniamo un momento su questa particolarità, che apparentemente sta in aperta contradizione con quanto ho detto avanti: però, se mi sembrava strano affermare che nel vivente la temperatura periferica cutanea potesse essere superiore a quella ascellare, non è più così nel cadavere. Nel vivente la temperatura ascellare è assai vicina a quella centrale, ma già in qualche caso può sensibilmente allontanarsene, come per es. nell' algidità, allorquando la circolazione periferica è languente, e quindi è facile il raffreddamento del braccio, la cui faccia interna costituisce una delle pareti del cavo ascellare.

Ora appunto nel cadavere troviamo esagerate queste condizioni: il termometro, applicato all'ascella, oramai non segna nient' altro che la risultante della temperatura locale della parete toracica e di quella della faccia interna del braccio. Nessuna meraviglia dunque che in qualche raro caso, dato il rapido raffreddamento del braccio e quindi anche del cavo ascellare, possa invertirsi la temperatura nel modo suddetto, quando al tempo stesso in altro punto del corpo esista una causa, che tenda a rallentare il raffreddamento della cute.

Indipendentemente da queste speciali irregolarità nella distribuzione della temperatura, che non hanno grande importanza pel caso nostro, un primo fatto, che salta subito agli occhi nell' osservare le tavole, è la notevole influenza, che esercita sulla temperatura cutanea una collezione di liquido di qualunque natura in una delle cavità del corpo, sia esso liquido ascitico, sia orina contenuta in vescica.

Già solo da questo si può intravedere quali leggi stiano a regolare la topografia termica del cadavere: una raccolta liquida rappresenta una massa d' alta capacità termica, che racchiude cioè in sè una notevole quantità di calore, e che quindi ne cede una maggior quantità e per un tempo più lungo ai tegumenti esterni. Effettivamente questa veduta riceve la sua conferma via via che ci addentriamo nei pa colari: in linea generale si incontra una temperatura mini nelle parti superiori del torace e nell'addome, in punti cic cui sottostanno organi cavi, di poca densità e quindi di n

cola capacità termica; inversamente la massima temperatura persiste a livello del fegato (v. tav. 2, 3, 6).

Una prima conseguenza, che siamo fin d'ora autorizzati a trarre, è che la distribuzione periferica della temperatura nel cadavere segue delle leggi, che devono stare molto in seconda linea nel vivente, e che più che ad altro bisogna dare importanza alla struttura anatomica e alle proprietà fisiche degli organi nelle varie regioni.

Quanto più presto vengono cominciate le misurazioni, dopo la denudazione del cadavere, tanta maggiore uniformità si trova nella distribuzione del calore; in una determinazione successiva già le differenze sono più rilevanti, e tali si mantengono ancora per molte ore (fino a 9-10), mutando talvolta i loro scambievoli rapporti, finchè poi lentamente decrescono coll' estinguersi di ogni residuo di calore nel corpo. Una tendenza all' uniformità di temperatura presentano quei casi, in cui la morte avvenne durante una notevole ipertermia (tetano, meningite, tumore cerebrale): in ciò esiste una certa similitudine con quanto è stato costatato nel vivente, in cui, durante la febbre, la temperatura periferica tende ad avvicinarsi a quella centrale, e diminuiscono le differenze tra i diversi punti della superficie cutanea.

La differenza tra il punto più caldo e il più freddo raggiunge ordinariamente 4 o 5 gradi, in casi normali, cioè quando non esiste alcuna localizzazione morbosa a livello dei punti presi in esame, e si può anche ritenere che il trovare una cifra minore è già segno che qualche causa tende ad aumentare la temperatura di uno dei due punti ovvero che esistono particolari condizioni, come soverchio deposito di adipe, edemi diffusi, che valgono a livellare le differenze: in tali casi i due punti possono distanziarsi solo di 1°,5.

Dato uno sguardo generale, vediamo di passare ora ad un esame più minuto; premettiamo che, malgrado l'apparente semplicità delle condizioni, che esistono nel cadavere di fronte quelle dell'organismo vivente, i risultati dell'osservazione non per questo vengono fuori sempre nitidi e di facile interpretazione: certo i miei 27 casi non sono, per il loro numero,

sufficienti ad illuminare ogni punto dell'argomento, ma d'altra parte non bisogna farsi illusioni, poichè in siffatte ricerche non si può pretendere di darsi ragione di ogni decimo trovato in più o in meno.

Cominciamo dalle regioni superiori del torace: nella maggior parte dei casi non esiste differenza notevole tra un lato e l'altro, difficilmente però si trova perfetta uguaglianza. Malgrado queste frequenti irregolarità (che talvolta oscillano anche da un lato all'altro col progredire del raffreddamento) un fatto risalta abbastanza evidente, ed è la differenza nel caso che esista un focolaio infettivo di qualsiasi natura.

Nelle polmoniti unilaterali e nelle affezioni tubercolari non è difficile persuadersi, osservando le tavole, che dal lato affetto esiste una differenza in più, sia di fronte al lato opposto, come anche in rapporto alle regioni circostanti: il fatto è molto evidente, quando si tratta di lesioni degli apici o delle parti anteriori dei polmoni, meno visibile e spesso assente nelle polmoniti delle basi a localizzazione posteriore (v. tav. 5 e 6). (Le misurazioni termometriche erano sempre fatte alla regione anteriore).

Continuiamo nell'esposizione dei fatti senza fermarci per ora a considerazioni, e passiamo alla regione precordiale: tanto nei primi momenti che seguono alla morte, come anche più tardi a raffreddamento avanzato ho quasi sempre trovato che la temperatura del 3° e 4° spazio intercostale sinistro è più elevata che quella delle regioni corrispondenti di destra e delle parti limitrofe: spesso la differenza è anche sensibile al tatto (v. tav. 1, 3, 4, 6). Questa è la disposizione più frequente, in casi, dove non esistano localizzazioni morbose; si può quindi considerarla come il tipo normale, da cui vanno distinte due specie di deviazioni: talvolta si nota un'esagerazione del fenomeno, una differenza cioè di temperatura ancora più spiccata tra la regione precordiale e quella del lato opposto; tal'altra invece un'inversione, nel senso che la temperatura si manti più elevata dell'ordinario nell'ambito polmonare. Una parte questi casi si riannoda a quanto abbiamo rilevato poco fa, ci troviamo cioè in presenza di una causa patologica a s

polmonare o pleurica (v. tav. 2 e 5), mentre più difficile è rendersi ragione dei casi, in cui si trova sin da principio o nel corso del raffreddamento che il precordio supera notevolmente, per grado di calore, le parti vicine e talvolta anche la regione epatica, di fronte a cui suole per l'ordinario avere una temperatura più bassa: alla necroscopia il fatto non si potè mettere in rapporto con nessuna condizione locale visibile. Però c'è da osservare che in un caso si trattava di uremia da nefrite cronica, in un altro di coma diabetico e in un terzo di anemia perniciosa (v. tav. 1 e 4). Vedremo fra poco quali deduzioni si possono trarre.

Paragonando l'ipocondrio destro con quello sinistro ho ottenuto anche qui dei risultati, che non sempre stanno in accordo colla legge sopra enunciata: difatti sarebbe da aspettarsi che la maggior temperatura dovesse trovarsi sempre sull'ipocondrio destro, dalla parte del fegato; esiste invece un ragguardevole numero di casi, nei quali si ha o parità di temperatura o inversione. Di questa apparente irregolarità si può però il più delle volte trovare la ragione, considerando le condizioni dello stomaco e della milza. A parte i versamenti pleurici a sinistra, che possono esercitare una certa influenza, in un caso si trattava di un'abbondante raccolta sanguigna nello stomaco, alcune volte di ingrandimento della milza (v. tav. 5), altre volte da eruzione di tubercoli sul peritoneo splenico e parietale (v. tav. 3).

In quanto all'addome si trova nei quadranti inferiori ordinariamente qualche grado di più che alle regioni superiori del torace. Abbiamo già detto che elevate temperature si trovano in casi di versamenti addominali (v. tav. 1), quando la vescica è piena di orina, talvolta per ragioni inapprezzabili. L'epigastrio è quasi sempre meno caldo della regione epatica: non sono rilevabili notevoli differenze a seconda che il fegato sia molto ingrandito o resti nei limiti normali.

Non ho dati sufficienti per definire la forma delle zone ertermiche, ma grossolanamente essa tende a rappresentare proiezione dell'organo sottostante sulla superficie cutanea; npre abbastanza netto è il passaggio tra le regioni a tem-atura differente.

Volendo ora trarre delle conclusioni, possiamo ritenere che la legge enunciata a principio, cioè del rapporto tra stato fisico dell'organo e temperatura della superficie corrispondenti, meno qualche eccezione, vale in generale a spiegare i fatti culminanti, come la relativa ipertermia sul fegato, sul cuore, sulla milza ipertrofica, sulle raccolte di liquidi.

Mi piace richiamare a questo proposito le ricerche sulla capacità termica e sulla conducibilità dei tessuti del corpo, eseguite da *Charrin* e *Guillemonat* (1), i cui risultati collimano con le nostre conclusioni.

Data questa legge, si capisce come le sue applicazioni debbano andar soggette a modificazioni per cause spesso inapprezzabili, a seconda, per esempio, del rapporto preso dai visceri colle pareti, a seconda dell'imbibizione dei tessuti, sia di natura patologica che cadaverica, a seconda della quantità di liquido contenuto nelle sierose, ecc.

La stessa legge deve valere senza dubbio anche per l'organismo vivente, però tante altre cause contribuiscono a modificarla sì, che effettivamente i risultati non corrispondono più in questo senso. Il *Redard* trovò, per esempio, nel torace una temperatura massima sulle regioni sopra e sotto-clavicolari, *Herz* e *Hiebel* (2) trovarono che la temperatura sul cuore è talvolta più elevata che sul polmone, ma talvolta trovarono anche il contrario, che la regione del fegato è più fredda che quella del cuore e così via, sempre in condizioni normali.

Per parte nostra quello che c'interessa specialmente è di decidere, se sia questa l'unica legge che regoli il raffreddamento cadaverico. Abbiamo trovato anche noi un'ipertemia a livello dei focolai morbosi del polmone: si può escludere che l'aumento di calore sia una conseguenza dell'attività funzionale patologica dei tessuti?

Il polmone ammalato, essendo alterato nella sua struttura anatomica, è anche fisicamente diverso dal normale; ora è al solo ispessimento della trama polmonare che va a

(1) Charrin et Guillemonat, Arch. de Physiologie, 1898.
(2) Herz e Hiebel, Wien. med. Presse, 1897.

buito l' aumento di temperatura? La risposta non è certo facile; ma le nostre osservazioni ci dànno in mano qualche argomento, che ci porta ad ammettere, accanto a questa causa tutta fisica, anche una certa importanza termogenetica in seno al focolaio morboso. Parlerebbero in questo senso le temperature trovate sul torace, in qualche caso di polmonite, superiori a quelle di altri organi di densità paragonabile al tessuto polmonare epatizzato, come il fegato; l'influenza esercitata dalla presenza di tubercoli, senza un corrispondente notevole ispessimento dei tessuti interessati.

Si può con tutta verosimiglianza rispondere affermativamente alla questione, che ci siamo prefissi, ammettendo la possibilità che si manifestino anche all' esterno le proprietà termogenetiche di un focolaio, dove, sia per parte di germi patogeni che di tessuti ammalati, si compiano con un'esagerata attività i processi chimici endo- ed estra-cellulari, che portano a produzione di calore.

E allora bisogna anche ammettere nel vivente la possibilità di verificare lo stesso fatto; a questo proposito non è superfluo ricordare che una tale deduzione sta in armonia con delle esperienze direttamente istituite per studiare i fenomeni termici, che si manifestano in organi inoculati con microrganismi patogeni. *Simoncini* e *Riolo* [1] in una recente comunicazione riferiscono i risultati delle misurazioni termo-elettriche eseguite in polmoni di conigli viventi, dei quali uno solamente era stato infettato col diplococco: essi trovano sensibili differenze tra i due lati, che li autorizzano a riconoscere ben fondate le osservazioni cliniche intorno alle ipertemie locali. Attribuiscono il fatto, seguendo le vedute che il *Giuffré* in questi ultimi anni è venuto svolgendo, in parte all' influenza dell'anabolismo batterico, in parte alle azioni esotermiche indotte dalla speciale tossina sul tessuto polmonare.

Naturalmente poi porta anche il suo contributo l' iperemia attiva che accompagna il processo infettivo: questa causa

---

[1] Simoncini e Riolo, Atti del I congresso medico siciliano. Palermo, 1908.

vale per sè stessa a produrre un disquilibrio nella irradiazione del calore tra un lato e l'altro del torace.

Altre cause che possono influire sulla temperatura periferica del cadavere sono le fermentazioni putrefattive, che si stabiliscono nel tubo digerente, succedendosi a quelle che normalmente esistono in vita; ciò spiega forse perchè la temperatura sull'addome sia alquanto più alta che sul torace.

Poco si può aggiungere di preciso riguardo alla milza; anche qui si ha l'impressione che oltre all'ingrandimento debba talvolta concorrere qualche altra ragione d'ordine biologico o chimico ad elevare la temperatura dell'ipocondrio sinistro.

Infine mi pare abbastanza giustificato far rilevare che in quei casi, in cui trovai notevole ipertermia sul cuore e relativa depressione di temperatura sul fegato, e che appartenevano a gravi malattie della nutrizione, si possa riguardare come non puramente accidentale la speciale coincidenza: si sa quale importanza abbia il fegato nella termogenesi dell'organismo, e quindi non è inverosimile supporre che essa manifesti ancora dopo la morte dell'individuo le conseguenze del suo anormale funzionamento, tanto più sapendo che in vita quelle tali malattie possono portare ad ipotermia generale.

Esaurito così il còmpito stabilitomi e visto che l'esperimento sul cadavere, se non ci incoraggia soverchiamente, pure non parla contro la possibilità che la termometria periferica venga in aiuto alla clinica, fissiamo quali condizioni siano necessarie per ottenere sull'ammalato i risultati più attendibili.

Un metodo, come quello da me adoperato, che ci dia rigorosamente la temperatura cutanea, è giustificato per determinazioni d'altro genere e per altri scopi. È vero che la pelle col suo meccanismo vascolare è sede di reazioni vaso-motrici riflesse, e quindi di cambiamenti di temperatura, in relazione coi focolai morbosi centrali, ma è una relazione abbastanza lontana, che non si sarebbe in diritto di adottare senz'alt come criterio clinico, pensando alla estrema variabilità de azioni vascolari di origine nervosa.

Non conviene dunque misurare la vera temperatura d

pelle: io credo che bisogna seguire l'esempio di quegli autori, che si servirono del termometro e ne protessero il bulbo per mezzo di strati coibenti.

Che cosa si ottiene in tal modo? Che la temperatura cutanea si elevi gradamente per l'impedita irradiazione e tenda a raggiungere la temperatura del sangue, circolante in quel dato punto; si viene così a spezzare lo stretto legame, che unisce l'irrorazione sanguigna della cute e il dato termometrico ottenuto. Solo in queste condizioni potranno essere apprezzate dal termometro le differenze dovute alla influenza degli organi interni. Si evita così anche in parte un'altra causa d'errore, qual è l'effetto dell'iperemia provocata dall'applicazione dello strumento sulla cute.

La minore sensibilità del termometro di fronte alle coppie termo-elettriche in pratica è anche un vantaggio, che supera l'inconveniente del tempo maggiore richiesto per la lettura.

Praticamente dunque l'obbiezione mossa contro l'uso del termometro non regge, e del resto bisogna riconoscere che i risultati ottenuti dagli autori, che l'hanno adoperato, sono i più incoraggianti.

Un'altra condizione che non si deve trascurare è quella riguardante l'irradiazione, a cui è sottoposto il corpo del paziente e più specialmente la parte in esame: da essa devono dipendere i rapporti di temperatura, che si stabiliscono tra i varii organi nell'interno dell'organismo; è chiaro che le differenze debbano accentuarsi, quanto più il corpo è esposto al raffreddamento, e viceversa tendano a scomparire, se l'irradiazione è ostacolata. Bisogna dunque non tenere molto coperta la regione da sottoporre ad esame e cominciare le misurazioni soltanto dopo che la dipersione cutanea si sia resa costante.

Concludendo dunque, solo con queste cautele si può sperare di trarre qualche utile risultato dalla termometria locale, r ı dimenticando che moltissime restano però sempre le cause d ırrore, che facilmente potrebbero creare delle illusioni.

Spiegazione delle figure.

TAVOLA I. — Giovane donna morta di nefrite: edema diffuso sottocutaneo, abbondante versamento addominale.
Figura a sinistra. — 5 ore dopo la morte.
Figura a destra. — A distanza di 6 ore.
Temperatura esterna 11°.

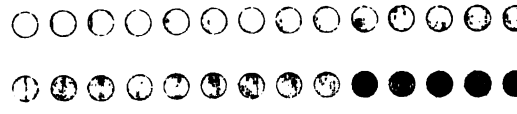
TAVOLA II. — Donna morta per vizio di cuore: cuore enormemente ingrandito, copioso versamento nella cavità pleurica destra, scarsa quantità di liquido nella pleura sinistra e nel peritoneo.
Figura a sinistra. — 50 minuti dopo la morte.
Figura a destra. — A distanza di 7 ore.
Temperatura esterna 11°.

TAVOLA III. — Giovane donna morta di meningite cerebro-spinale: diffusa eruzione di tubercoli ai polmoni e alle pleure; tubercolosi miliare del peritoneo, specie in vicinanza della milza; temperatura al momento della morte 39°.
Figura a sinistra. — 1 ora dopo la morte.
Figura a destra. — A distanza di 9 ore.
Temperatura esterna 11°.

TAVOLA IV. — Uomo giovane morto in coma diabetico: nulla di notevole all'autopsia.
Figura a sinistra. — 1 ora dopo la morte.
Figura a destra. — A distanza di 4 ore.
Temperatura esterna 13°.

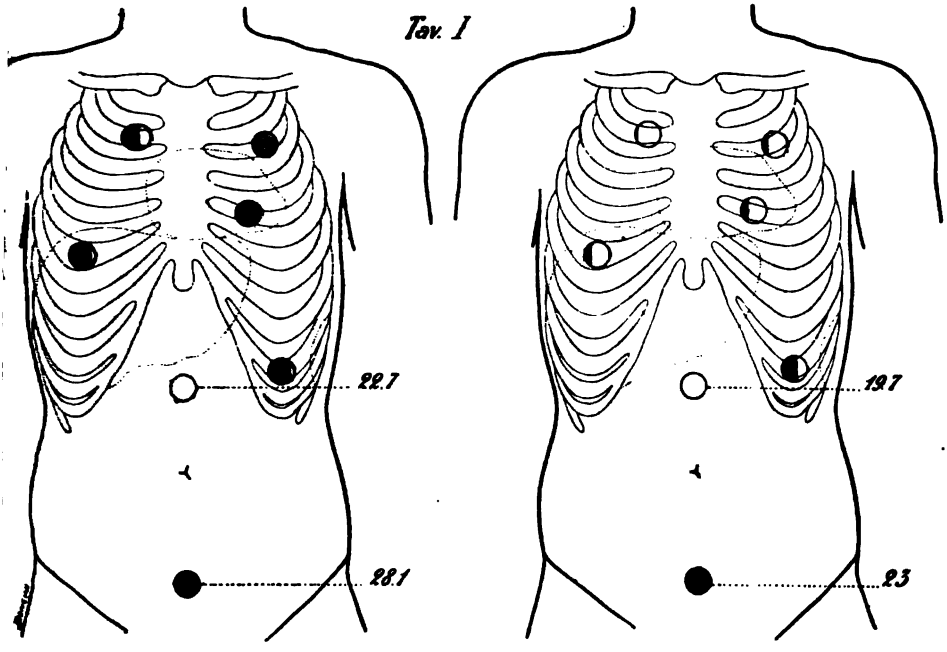
TAVOLA V. — Donna morta di polmonite: polmone destro epatizzato, cuore dilatato, milza ingrandita, abbondante pannicolo adiposo.
Figura a sinistra. — 2 ore dopo la morte.
Figura a destra. — A distanza di 6 ore.
Temperatura esterna 12°.

TAVOLA VI. — Uomo morto di polmonite: all'autopsia polmonite massiva destra.
Figura a sinistra. — 1 ora dopo la morte.
Figura a destra. — A distanza di 6 ore.
Temperatura esterna 17°.

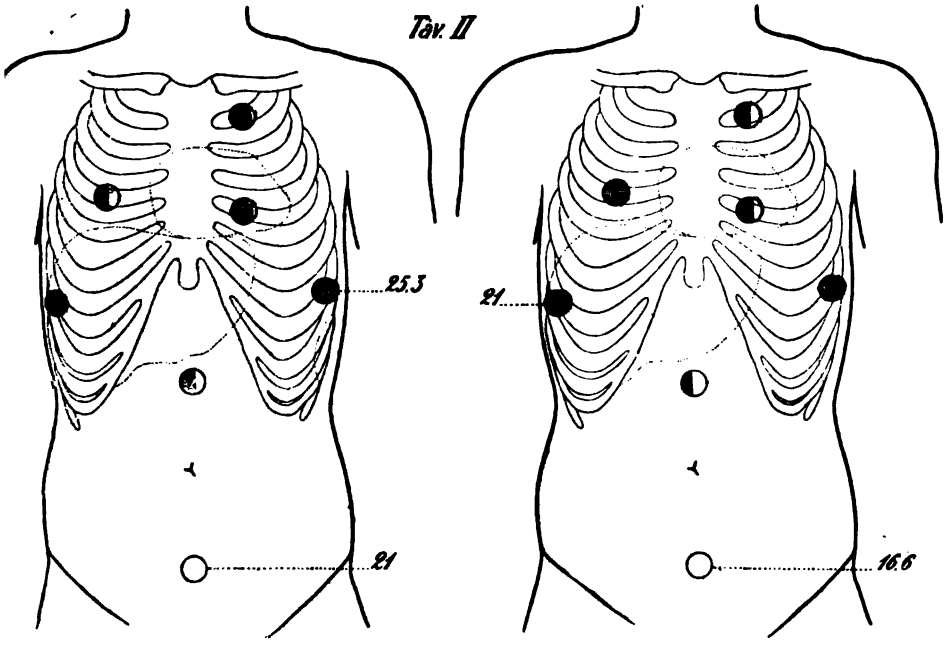


Scala secondo la quale sono indicate le differenze di temperatura: tra un segno e l'altro esiste una differenza di $^{2}/_{10}$ di grado.

Tav. I

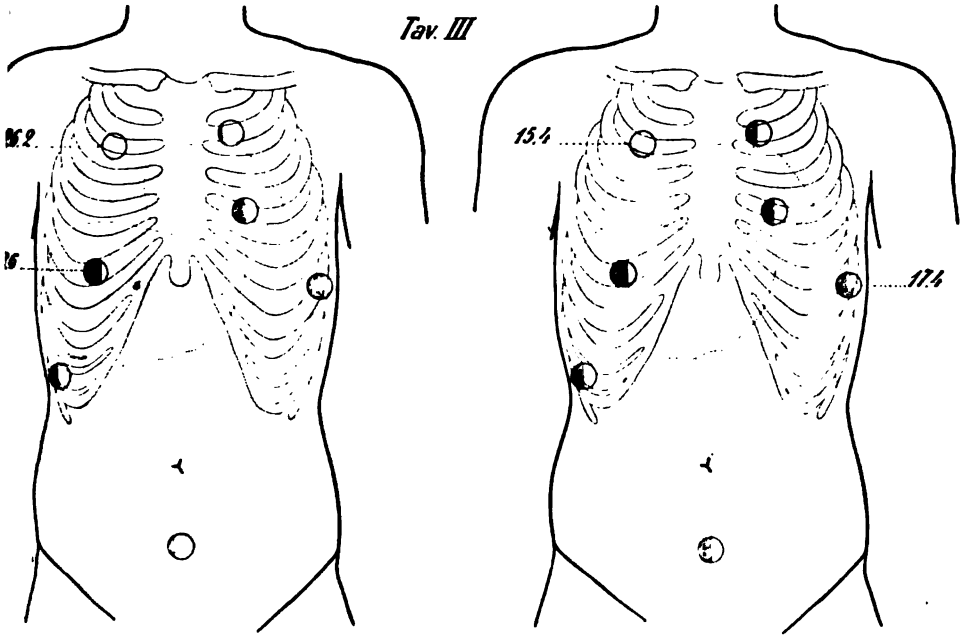


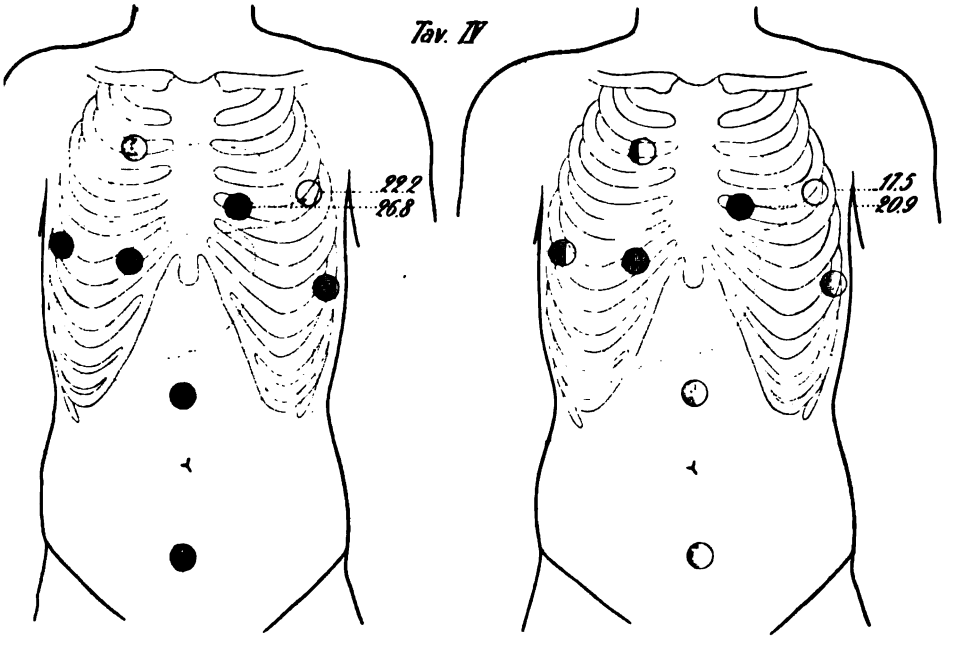
Tav. II



L. Siciliano. — *Sulla distribuzione della temperatura periferica nel cadavere.*

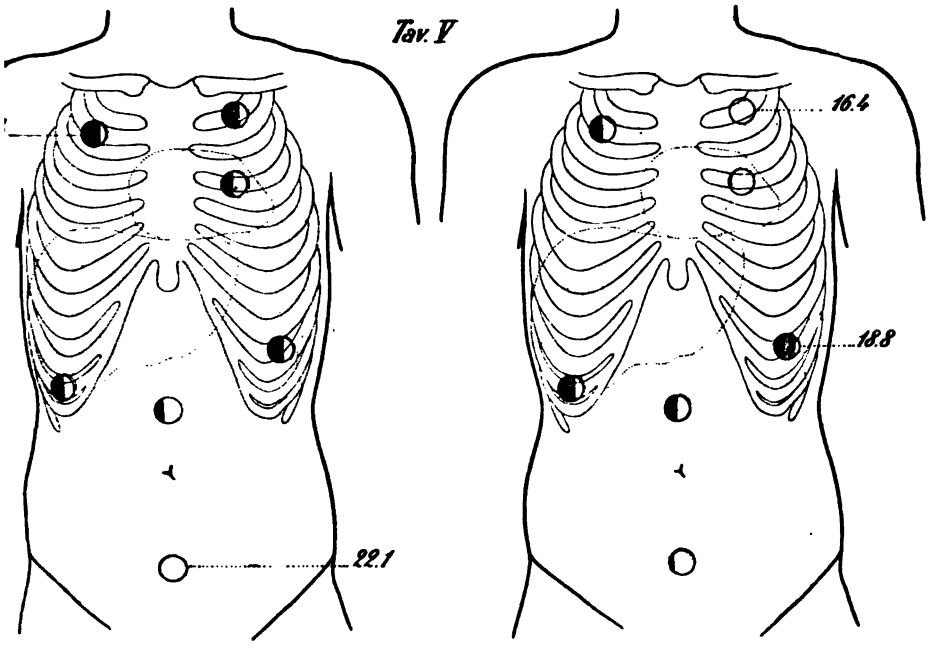
Firenze — Soc. Tip. Fiorentina — 8-1908.

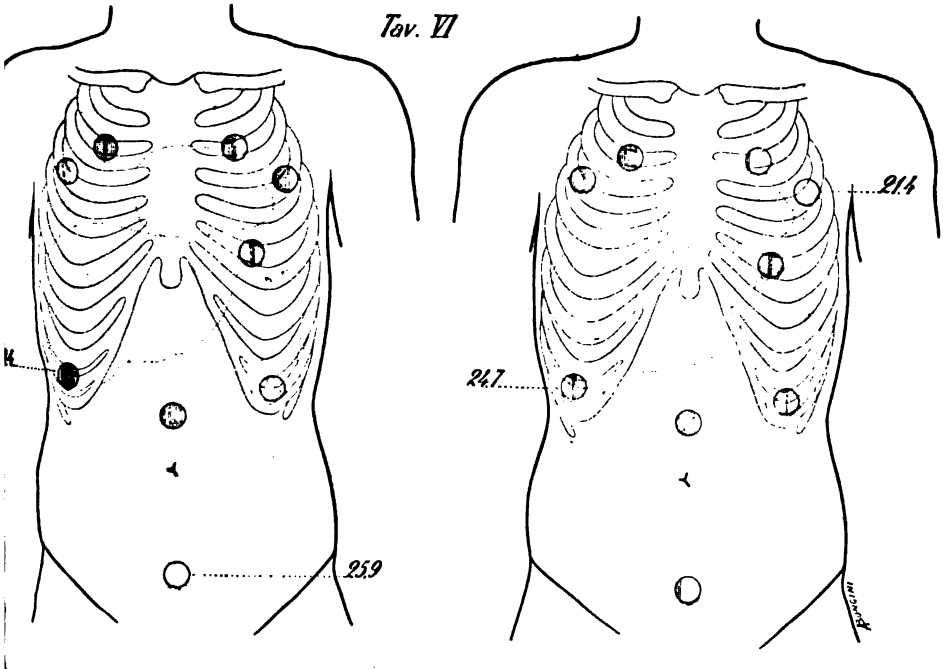




I. L. Siciliano. — Sulla distribuzione della temperatura periferica nel cadavere.

Firenze — Soc. Tip. Fiorentina — 8-1903.





L. Sicilliano. — *Sulla distribuzione della temperatura periferica nel cadavere.*

Firenze — Soc. Tip. Fiorentina — 8-1903.

Istituto Anatomico della R. Università di Cagliari
diretto dal Prof. **Francesco Legge**.

OSSERVAZIONI MORFOLOGICHE SUI MUSCOLI SPINALI POSTERIORI.

DOTT. ORRÙ EFISIO
Settore.

Osservazioni morfologiche sui muscoli spinali posteriori.

Oggidì è generalmente ammesso, che i muscoli spinali posteriori presentano, anche nell'uomo, una disposizione, che ricorda la segmentazione metamerica degli animali inferiori. E veramente, se si bada, che questi muscoli hanno i loro principali punti d'inserzione sulle ossa, che ancora sono la prova esistente della primitiva metameria del nostro corpo, intendo dire delle costole e delle vertebre, si ha per conseguenza, che questi muscoli, più che gli altri, debbano conservare le tracce primitive. Ma pure se noi ci limitiamo ad osservare isolatamente detti muscoli nell'uomo, non riesce facile mostrarne la metameria, ma se gli esaminiamo, comparativamente a quelli degli altri animali inferiori all'uomo, noi possiamo seguire il loro graduale sviluppo e la stretta parentela, che lega gli uni agli altri.

A questo lavoro mi sono io accinto per consiglio del prof. *Legge* e perchè ignoro, se esista un lavoro completo su questo argomento ed anche, perchè credo importante di chiarire, se ciò mi è possibile, i dubbi, che ancora esistono sulla divisione di questi muscoli.

Incominciai le mie osservazioni nei pesci, le continuai negli anfibi, rettili, uccelli e mammiferi, e le basai sulla direzione delle fibre e sulla loro inserzione. Negli animali piccoli,

dove maggiore difficoltà trovai nella dissezione dei muscoli ed a seguire la direzione delle loro fibre, seguii la tecnica di lasciarli per alcuni minuti in acqua bollente. Mi servii pure di lenti d'ingrandimento per meglio seguire il decorso delle fibre, ed utilizzai alcune sezioni microscopiche di feti, specialmente di rettili, per poter meglio precisare la disposizione di questi muscoli.

Pesci. — Nei pesci i muscoli del dorso, vengono rappresentati dalla continuazione dorsale delle masse muscolari laterali, le quali sono divise in miomeri separate da miocommi; nel dorso, questi miomeri, hanno generalmente questa direzione: sono obliqui e convergono lungo la linea mediana, cosicchè il miomero di un lato, con quello del lato opposto, formano un angolo aperto posteriormente; le fibre muscolari invece, hanno una direzione obliqua dalla parte caudale verso la cefalica e dalla parte mediale verso la laterale.

In alcuni pesci si trova nel dorso un muscolo lungo, tanto da una parte, che dall'altra della linea mediana, ed occupa lo spazio abbastanza ristretto, superficiale, lasciato dorsalmente dalle masse dei muscoli laterali. Nel *belone acus*, dove io l'osservai, si può seguire dalla testa alla coda; questo muscolo non presenta alcuna divisione metamerica, è più largo alla estremità cefalica e più sottile verso la caudale, aderisce alla sommità delle apofisi spinose. Esso venne considerato da qualcheduno come muscolo dorsale (*Vogt*, *Jung*), ma è invece, secondo un recente studio del *Favaro*, composto di tre fasci, uno laterale, uno intermedio ed uno mediale e che per riguardo al loro significato i due primi appartengono a muscolatura di segmenti di pinne dorsali in via di evoluzione, e giudica poco attendibile qualsiasi omologia stabilita fra questi muscoli ed alcuni muscoli del dorso dei vertebrati superiori.

Anfibi. — In alcuni anfibi, la disposizione dei muscoli dorsali è semplicissima come nei pesci, così nell'*Euproctus Rusconi*, dove io gli osservai, si ha una disposizione metamerica dei m scoli dorsali; i miomeri hanno una direzione obliqua dall'ava all'indietro, dall'interno all'esterno, cosicchè i miomeri di lato con quelli del lato opposto, formano nella linea medi

un angolo aperto posteriormente; le fibre invece, che compongono questi miomeri, hanno una direzione, che può dirsi inversa, esse si dirigono dall'interno all'esterno e dalla parte caudale verso la cefalica.

Nella rana e nel *Bufo vulgaris* la disposizione dei muscoli del dorso è più complicata che nei precedenti animali, in essi, i muscoli lunghi del dorso, sono rappresentati da due grossi muscoli, che possono considerarsi come continuazione dei muscoli sacro-cocigei; sono collocati lateralmente alla linea mediana lungo la colonna vertebrale e s'inseriscono al sacro ed a tutte le apofisi trasverse, sono più larghi a misura che si portano più avanti, mentre caudalmente sono più stretti. In corrispondenza delle vertebre sacrali terminano in forma conica e sono riuniti entrambi da un tendine comune. Lungo tutta la sua faccia dorsale le fibre carnose vengono intersecate da tratti tendinei, ricordando così la disposizione metamerica. Le loro fibre hanno una direzione obliqua dalla parte caudale verso la cefalica e dalla parte mediale verso la laterale.

Rettili. — Nei rettili è ancora più complicata la disposizione dei muscoli lunghi del dorso. Io la osservai nel *Gongilus occellatus* e nella *Lacerta viridis*. Nel *Gongilus*, al disotto del trapezio e del grande dorsale, che qui sono sottilissimi, si trovano, da un lato e dall'altro della linea mediana, due cordoni muscolari ricoperti da una aponevrosi abbastanza resistente.

Se si porta via questa aponevrosi, i due cordoni facilmente si possono separare; il più mediale di essi, parte dalle ultime vertebre sacrali, in questo punto ha una forma conoide, e si porta anteriormente fino alle vertebre cervicali, la direzione delle sue fibre è obliqua dall'esterno all'interno e dalla parte caudale verso la cefalica, esse s'inseriscono alle apofisi trasverse vertebrali, che sono poco manifeste e si confondono colle ›ofisi articolari anteriori, e medialmente per mezzo di pic›li tendini alle apofisi spinose; cosicchè noi possiamo consi'erare, questo muscolo, come trasverso spinoso. Il muscolo ›iù laterale si origina dalle apofisi trasverse del sacro e

dalla parte anteriore dell'ileo ed arriva anteriormente fino alle prime coste ed alle apofisi cervicali trasverse, le sue fibre hanno una direzione obliqua dall'interno all'esterno e dalla parte posteriore verso l'anteriore, esse s'inseriscono alle apofisi trasverse e si dirigono lateralmente in avanti per inserirsi alle costole per mezzo di piccoli tendini. Questo muscolo si può considerare come composto da tanti piccoli muscoli trasverso-costali. I muscoli posteriori del collo non sono che continuazione dei muscoli precedentemente descritti nel dorso, così lo splenio ed il piccolo complesso pare che si continuino col muscolo, che ho descritto nella parte laterale, essi s'inseriscono posteriormente alle apofisi trasverse cervicali ed anteriormente all'occipito basilare ed anche all'occipito laterale. Il grande complesso invece si può considerare come una continuazione del muscolo più interno dorsale, presenta la stessa direzione di fibre e s'inserisce anteriormente alla parte basilare dell'occipitale.

In questi animali dunque, due soli muscoli lunghi del dorso distinti ho riscontrato. Anche nella *Lacerta viridis* è quasi identica la loro disposizione [1].

Uccelli. — Ho studiato i muscoli lunghi del dorso nel *Circus aeruginosus* e nella *Fulica atra.* Sebbene negli uccelli la disposizione dei muscoli sia molto diversa, per la differenza scheletrica, che esiste cogli altri animali, tuttavia anche in essi ho trovato, che i muscoli lunghi del dorso, hanno una disposizione simile a quella riscontrata negli altri animali, precedentemente descritti.

[1] Avevo già consegnato, per pubblicarlo, questo lavoro, quando venni a conoscenza di un recente lavoro del Dott. *Giuseppe Favaro* pubblicato nel *Monitore zoologico italiano*, anno XIV, n. 2: *Intorno ai muscoli dorsali dei Lacertidi.* In esso l'autore dice, che la differenziazione dei miomeri primitivi in muscoli d'inserzione scheletrica nei rettili non sia ancora completa; e divide i muscoli dorsali, in: 1° *Ilio costalis*, 2° *longissimus dorsi* e i più mediali li trova costituiti di tre ordini di fasci, che chiama il 1° *zygospinalis*, il 2° *Multifidus* ed il 3° *Interspinalis.* Non potendo dilungarmi di più in questa nota, mi limito a confermare quanto ho sopra esposto, per ciò che riguarda i muscoli dorsali dei rettili, non permettendomi le osservazioni fatte su numerosi preparati di venire ad una conclusione diversa.

Negli uccelli, viene descritto come muscolo lungo dorsale (*Vogt* e *Yung*) una grossa massa muscolare, collocata da ciascun lato della colonna vertebrale, le sue fibre hanno un decorso trasverso e sono raggruppate in due parti, una più piccola, che s' inserisce dorsalmente all'apofisi spinose delle prime vertebre dorsali ed inferiormente all'estremità dell'omero, l' altra posteriore, che fa immediatamente seguito, si prolunga fino alla regione anteriore del bacino, sotto forma di una grossa lamina e s' inserisce in avanti nell'omero, ciò non è esatto, perchè questi muscoli, che ho riscontrato tanto nel *Circus aeruginosus*, come nella *Fulica atra*, sono più omologhi al gran dorsale dei mammiferi che al lungo dorsale. Al di sotto di questo muscolo, nella *Fulica atra*, potei isolare un altro muscolo sottilissimo, che s' inseriva medialmente alle apofisi spinose e lateralmente al margine interno della scapola e che io ritengo, per questa disposizione, sia da considerarsi come omologo al romboide dei mammiferi. Più profondamente ancora ai muscoli accennati, si arriva allo strato dei muscoli lunghi del dorso, che in questi animali sono molto sottili. Si nota in essi anzitutto un muscolo laterale, che parte dalla cresta iliaca e le sue fibre in questo punto, si confondono più internamente con quelle del muscolo, che è più mediale, si porta in avanti diventando sempre più sottile, lateralmente s' inserisce a tutte le costole, medialmente invece, per mezzo di tendini, alle apofisi trasverse, anteriormente si può seguire fino alle apofisi trasverse delle ultime vertebre cervicali. Medialmente a questo muscolo si osserva un altro muscolo, che ha origine alla base del sacro e le sue fibre quivi si confondono con quelle del muscolo laterale, come già è stato detto. La sua faccia dorsale è tendinea e le sue fibre s' inseriscono alle apofisi spinose delle vertebre lombari e delle prime dorsali; esse hanno una direzione obliqua dall' interno all'esterno e dalla parte posteriore verso l'anteriore, lateralmente le sue fibre carnose s' impiantano medialmente ai tendini dei muscoli laterali, che s' inseriscono alle apofisi trasverse; una parte però di esse va ad inserirsi direttamente alle apofisi trasverse. Questo muscolo può seguirsi in alto fino alle ultime apofisi trasverse cervicali e pare che si

continui coi muscoli lunghi posteriori del collo; infatti in questi si osserva un' identica disposizione di fibre specialmente alla sua origine. Al di sotto di questo muscolo si trova regolarmente disposto un altro muscolo, che si inserisce nelle apofisi trasverse di tutte le vertebre lombari e per mezzo di tendini robusti, alle apofisi spinose delle vertebre collocate più anteriormente, ordinariamente sulla terza, se si conta, come prima, la vertebra dove il muscolo s' inserisce all' apofisi trasversa.

Mammiferi. — Preparai i muscoli del dorso del *Mus decumanus*, *Lepus cuniculus*, *Felis catus*. Nel *Mus decumanus*, osservai, che dalle ultime vertebre sacrali si porta in avanti, una massa muscolare, che conica ed esile, lungo le vertebre sacrali, acquista un grande sviluppo, lungo la regione lombare, per diventare più sottile nella regione dorsale. La superficie dorsale di questa massa è tendinea e s'inserisce, per mezzo di robusti tendini, a tutte le apofisi spinose sacrali, lombari, e ultime dorsali. Le fibre carnose invece, s'inseriscono alla cresta iliaca, alle apofisi trasverse delle prime sacrali, di tutte le vertebre lombari ed alle ultime costole. Arrivata nella regione dorsale, in corrispondenza della terz' ultima costola, si divide in due muscoli uno laterale e l' altro mediale, il laterale manda esternamente dei piccoli fasci distinti a tutte le costole, dalla terza in su ed arriva sino all' apofisi trasversa dell' ultima vertebra cervicale, internamente si inserisce alle costole; il mediale s' inserisce lateralmente alle costole ed arriva sino all' apofisi trasversa della vertebra cervicale, collocata al di sopra della vertebra dove s' inserisce il muscolo precedente, medialmente s' inserisce alle apofisi trasverse. Tanto la massa comune, come questi due muscoli, che da essa si originano, presentano la stessa direzione di fibre, cioè obliqua dalla parte caudale verso la cefalica e dall' esterno all' interno. Il tendine dorsale, notato nella massa comune, si continua anteriormente nel muscolo mediale, che da essa si origina, fino in corrispondenza della 5ª costa. Più medialmente ai muscoli descritti lungo la gione dorsale, un altro muscolo si nota, che anteriormente s' serisce all' apofisi spinose delle quattro e cinque prime verte dorsali e le sue fibre si portano posteriormente oblique in fu

per impiantarsi alla superficie tendinea del muscolo mediale originatosi dalla massa comune. Al disotto del muscolo precedente, nello spazio molto ristretto, compreso tra le apofisi spinose e le trasverse, che forma la doccia vertebrale, si nota un altro muscolo lungo, che si può seguire nella colonna vertebrale fino al sacro; le sue fibre hanno una direzione obliqua dall'interno all'esterno e dalla parte cefalica alla caudale, medialmente s'inseriscono alle apofisi spinose, lateralmente alle apofisi trasverse. Nel *Lepus cuniculus*, la disposizione dei muscoli lunghi del dorso si presenta alquanto diversa. Questi sono ricoperti dal trapezio dal gran dorsale e dalla sua aponevrosi, e da un altro foglietto aponevrotico, che si continua coi muscoli piccoli dentati posteriori.

Tolti questi muscoli e le aponevrosi, si mette allo scoperto il muscolo più interno, che è costituito da fibre, che vanno dalla parte anteriore verso la posteriore e dall'interno all'esterno, inserendosi internamente alle apofisi spinose, esternamente invece, all'aponevrosi tendinea, che ricopre il muscolo, che gli sta lateralmente, si presenta molto sviluppato posteriormente e diventa più sottile a misura, che si porta innanzi nella regione lombare, per diventare poi, più largo nella regione dorsale. Esso si può seguire posteriormente fino alle vertebre sacrali ed anteriormente fino alle ultime vertebre cervicali. Lateralmente a questo muscolo, si osserva una massa muscolare robustissima, ricoperta dorsalmente da una membrana tendinea, che si continua pure medialmente, dove si inserisce, con robusti tendini alle apofisi trasverse, le sue fibre carnose hanno una direzione obliqua dall'interno all'esterno. Essa si origina dalle vertebre sacrali dove sta lateralmente al muscolo precedente e s'inserisce alla cresta iliaca ed alle apofisi trasverse lombari. In corrispondenza dell'ultima costa manda lateralmente un grosso fascio di fibre, che si porta in alto e per mezzo di tanti piccoli tendini, va ad inserirsi alle costole, si può seguire anteriormente sino alle apofisi trasverse delle ultime vertebre cervicali. La massa principale continua il suo decorso in alto inserendosi a tutte le costole e si può seguire sino alle apofisi trasverse delle vertebre cervicali, collocate immediatamente al

disopra delle inserzioni del muscolo precedente. Al di sotto del muscolo più interno, già descritto, noi troviamo nello spazio molto ristretto, di questo animale, compreso tra le apofisi spinose e le trasverse, un muscolo esilissimo, le cui fibre hanno una direzione dall'avanti all'indietro e dall'interno all'esterno, inserendosi internamente alle apofisi spinose ed esternamente a quelle trasverse.

Nel *Felis catus* ho potuto studiar meglio la disposizione di questi muscoli. La massa comune, in quest'animale, è molto sviluppata, e prima di arrivare all'ultima costola, non si osserva in essa alcuna divisione. S'inserisce posteriormente alla faccia dorsale del sacro ed alla cresta iliaca, dorsalmente è tendinea e presenta la stessa direzione delle fibre notata negli animali precedenti.

La prima divisione della massa comune avviene, lateralmente, in corrispondenza dell'ultima costola, da essa si distacca un fascio sottile, che va ad inserirsi al margine inferiore della penultima costa e di tutte le altre costole fino alla prima, dapprima con fibre carnose, ma in seguito con tendini distinti. Medialmente le fibre di questo muscolo si intrecciano con quelle del muscolo vicino, anteriormente s'inseriscono alle apofisi trasverse delle due ultime vertebre cervicali. Il muscolo, che sta medialmente è molto più sviluppato del precedente ed anzi è il più sviluppato dei muscoli lunghi del dorso, si può dire, che questo, rappresenti la continuazione anteriore della massa comune, s'inserisce al margine inferiore di tutte le costole, per mezzo di tendini distinti nelle prime costole e con fibre carnose nelle successive, le ultime inserzioni anteriori arrivano alle apofisi trasverse delle tre vertebre cervicali, collocate immediatamente al disopra di quelle, dove s'inserisce il muscolo laterale, dinnanzi descritto, medialmente s'inserisce alle apofisi trasverse. La direzione delle fibre di questo muscolo, come di quello precedentemente descritto, è identica, tutte sono dirette dalla parte posteri verso l'anteriore ed obliquamente all'esterno. Un altro m scolo si nota medialmente, che è discretamente sviluppato affatto distinto dai precedenti, esso s'inserisce nella linea r

diana, alle apofisi spinose, dalla quartultima vertebra dorsale fino all' ultime vertebre cervicali, le sue fibre sono oblique posteriormente e s' inseriscono tutte lateralmente, alla faccia tendinea, continuazione del tendine della massa comune notata nel muscolo, precedentemente descritto. A causa di quest' inserzione si ha, che i fasci di fibre, che s' inseriscono alle apofisi spinose più anteriori, sono le più lunghe, mentre quelle che s' inseriscono a quelle più posteriori sono le più corte. Al di sotto di questo muscolo, un altro muscolo si nota, che s' inserisce, anteriormente alle apofisi spinose, immediatamente al di sotto delle inserzioni del muscolo precedente e posteriormente alle apofisi trasverse, cosicchè questo è un muscolo trasverso spinoso, che si può seguire lungo tutta la colonna vertebrale. Anche nel cane vengono descritti quattro muscoli lunghi del dorso dai dottori *Ellenberg* e *Baun*. Così pure nello Cimpanzé, lo *Sperino* trovò una disposizione analoga a quella dell' uomo.

Uomo. — Nell' uomo non tutti gli autori sono d' accordo sulla divisione dei muscoli lungo dorsali. Lo *Chaussier* li descrisse col nome collettivo di sacro spinali, il *Cruveilhier*, il *Sappey*, *Beaunis*, *Bouchard* ed anche il *Testut* descrivono tre muscoli, il sacro lombare, lungo dorsale e trasverso spinoso, il *Gegenbaur* distingue i muscoli spino dorsali o muscoli lunghi della colonna vertebrale, 1° in spino trasversale o splenio; 2° sacro spinale, che alla sua volta si divide in muscolo sacro lombare od ileo costale ed in lungo dorsale; 3° lungo spinoso spinale; 4° trasverso spinoso.

G. D. Thane chiama *erector spinae*, tutta la massa muscolare, che si estende per tutta la lunghezza del dorso, dalla pelvi alla testa e che per facilitare la descrizione, divide in sette parti. Cominciando dal basso sotto forma di una massa comune si continua in alto in tre colonne, delle quali, la più interna, *spinalis dorsi*, è relativamente più breve e sottile, mentre le altre due sono molto più dense e sono di nuovo suddivise in tre porzioni ciascuna. La colonna esterna ileo costale, accessorio cervicale ascendente, e la colonna media nel lunghissimo del dorso, trasversale del dorso e trachelo mastoideo.

Anche il *Romiti*, sotto il nome di muscoli lunghi del dorso,

descrive i muscoli della nuca unitamente a quelli del dorso. Il *Debierre* in un lavoro speciale, sul valore morfologico dei muscoli spinali posteriori, descrive i muscoli spinali insieme ai muscoli della nuca e li divide in modo generale in quattro gruppi: 1° un gruppo intercostale posteriore (sacro lombare e cervicale discendente); 2° un gruppo spino dorsale e spino trasverso (lungo dorsale, splenio, trasverso del collo e piccolo complesso); 3° un gruppo trasverso spinoso (trasverso spinoso comune, grande complesso, trasverso spinoso); 4° un gruppo sopraspinoso (sopraspinoso). Egli dice, che il sacro lombare o l'intercostale comune è quasi lo stesso in tutti i mammiferi. Il lungo dorsale lo chiama spino costale e spino trasversale nella sua porzione lombo sacrale. Il sottospinoso lo descrive come comunemente viene descritto in tutti i trattati. Dice che nei quadrupedi conserva la stessa disposizione che nell'uomo, ciò che non credo sia del tutto esatto. Il *Poirier* divide i muscoli dello strato profondo della regione posteriore del tronco in muscoli della nuca ed in muscoli spinali posteriori. Questi li distingue in sacro lombare, lungo dorsale e trasverso spinoso, dice pure, che esiste un quarto muscolo (il lungo spinoso) descritto da numerosi autori col lungo dorsale. Io ho preparato i muscoli lunghi del dorso in molti cadaveri e sebbene ritenga anch'io, che sia più naturale descrivere i muscoli della nuca assieme a quelli del dorso, pure limitai il mio studio solamente a questi, perchè meglio si prestavano ad uno studio comparativo negli animali, che io potei osservare. Non ripeterò ciò che in qualunque trattato di Anatomia umana trovasi esattamente descritto, ma mi fermerò solo, su quanto ha relazione colle osservazioni precedentemente fatte, o dove io ritenga, che le mie osservazioni non corrispondano a quelle fatte dagli autori.

Anche nell'uomo si osserva una massa comune, colla superficie dorsale tendinea, da questa massa hanno origine: un muscolo laterale, il sacro lombare, le cui fibre si dirig obliquamente all'esterno e vanno ad inserirsi al margine feriore delle costole; la sua divisione dalla massa comune comincia in corrispondenza dell'ultima costola, superiorme

si continua col muscolo cervicale ascendente fino alle apofisi costiformi delle prime vertebre cervicali; medialmente si notano dei fasci muscolari, che per mezzo di tendini s' inseriscono al margine superiore delle coste e questi sono i cosidetti fasci di rinforzo, che si possono seguire fino alla terzultima costola. Medialmente al precedente si trova il muscolo lungo dorsale, che in basso si continua colla massa comune, ed il tendine dorsale osservato in questa si continua superiormente nel muscolo, inserendosi medialmente alle apofisi spinose lombari, sino all' altezza dell' apofisi spinosa della prima lombare e continuandosi lateralmente, seguendo la stessa direzione delle fibre carnose, fino all' altezza della sesta costa. Le fibre di questo muscolo presentano la stessa direzione del muscolo precedente, s' inseriscono lateralmente alle costole, medialmente alle apofisi trasverse. In alto si continua col trasverso del collo, che va ad inserirsi ai tubercoli posteriori dell'apofisi trasverse delle sei ultime vertebre cervicali e col piccolo complesso, che arriva al bordo posteriore ed alla sommità dell' apofisi mastoide. Anche in questo muscolo, come nel precedente, si osservano dei fasci di rinforzo che per mezzo di robusti tendini vanno ad inserirsi alle apofisi trasverse delle vertebre dorsali.

Il muscolo più mediale ha la direzione delle fibre diversa da quella dei muscoli precedenti, medialmente s' inserisce alle apofisi spinose delle vertebre dorsali, lateralmente invece, le fibre muscolari si portano obliquamente in basso, per prendere impianto nel tendine della massa comune, che si continua col lungo dorsale. Le fibre, che s' inseriscono alle apofisi spinose anteriori, sono le più corte, mentre sono le più lunghe quelle, che s' inseriscono alle apofisi spinose delle vertebre superiori. Questo muscolo è considerato, da alcuni autori come un muscolo a sè, da altri invece, come un fascio del lungo dorsale. La descrizione, che ne danno i trattati più enti non mi pare, che corrisponda esattamente al vero. l *Poirier* si legge « questo muscolo stretto, fusiforme è colcato sul lato delle apofisi spinose delle vertebre dorsali, soa il trasverso spinoso, al lato dei fasci interni del lungo

dorsale col quale esso è intimamente unito nel suo bordo esterno, nasce da tre o quattro linguette tendinee ben distinte, dalla sommità delle apofisi spinose delle due prime lombari e delle due ultime dorsali (talvolta dalle tre prime lombari e dalla dodicesima dorsale). Le fibre carnose appariscono nella faccia anteriore di questi tendini e formano un corpo carnoso al quale viene ad aggiungersi qualche fascio venuto dal lungo dorsale. Questo ventre carnoso non tarda a dividersi in linguette, che vanno, parte carnose, parte tendinee ad inserirsi alla sommità delle sette o otto vertebre dorsali comprese fra la prima e la decima. Talvolta il numero di queste linguette è minore, se ne contano solo sei, quattro, tre che vanno alla quinta, sesta, settima spina dorsale. Si vede che dalla loro origine alla loro inserzione i fasci di questo muscolo descrivono degli archi appiattiti, che vanno da una spina lombare ad una spina dorsale, i fasci più profondi formano degli archi più piccoli concentrici ai precedenti ». Il *Romiti* dice invece più esattamente, che questo muscolo è formato da un numero vario di fasci, da due a sei, che s' inseriscono per mezzo di lunghi tendini d' inserzione del lungo dorsale, all'apofisi spinose della seconda e terza lombare. Non direttamente dunque, per mezzo di tendini propri come dice il *Poirier* ma indirettamente per mezzo dei tendini del lungo dorsale come osservai anch' io in tutti i miei preparati.

Più profondamente al muscolo precedente, si nota un altro muscolo, trasverso spinoso, che si estende dal sacro fino alla seconda vertebra cervicale. Esso è costituito da un gran numero di fasci, che montano obliquamente dalle apofisi trasverse alle apofisi spinose, i fasci superficiali sono più obliqui e più lunghi, i più profondi invece sono meno obliqui e meno lunghi.

Da questo rapido esame, io vengo alle seguenti conclusioni, che mi sembrano le più naturali. Una relazione continua esiste sulla direzione delle fibre di questi muscoli, (vertebrati inferiori ai superiori. Dalla semplice divisione me merica, che si riscontra nei pesci, ai complicati muscoli d l'uomo, noi troviamo la stessa direzione di fibre, se consi

riamo, s'intende, gl' individui collocati nella stessa posizione. Per rispetto alla loro divisione ho visto che nei pesci e in alcuni anfibi non esistono divisioni nel senso longitudinale di questi muscoli. Nel *Bufo* la massa muscolare notata nel dorso, può, per la direzione delle sue fibre, come per la loro inserzione, considerarsi solo, come equivalente ai due muscoli lungo dorsale e sacro lombare dei mammiferi.

Nei rettili invece le due masse muscolari osservate, sono, per le stesse ragioni dette, omologhe, la mediale al traverso spinoso e la laterale al sacro lombare ed al lungo dorsale uniti insieme. Negli uccelli i muscoli notati, sebbene differentemente disposti, pure anche in essi, io ritengo con probabilità, omologo all'ileo costale, il più esterno, ed il più mediale al lungo dorsale; in questi animali la superficie dorsale tendinea, che nei vertebrati superiori s' inserisce alle apofisi spinose delle vertebre sacrali e delle lombari, prende invece inserzione, su tutte le apofisi spinose dorsali. Il muscolo sottostante al lungo dorsale è omologo al trasverso spinoso dei mammiferi.

Nei mammiferi, come si è visto, la disposizione dei muscoli è molto più complicata, che negli altri animali. Nel *Mus decumanus*, il muscolo più esterno è da considerarsi omologo al sacro lombare, il medio al lungo dorsale, ed il mediale al lungo spinoso dell' uomo. Il muscolo poi collocato sotto quest' ultimo è il muscolo trasverso spinoso. Una disposizione simile, abbiamo pure nel coniglio e nel gatto. Anche nell' uomo si riscontrano gli stessi muscoli; solo è da notare, che tanto nel sacro lombare, come nel lungo dorsale, si osservano dei fasci accessori molto sviluppati, che non ho potuto vedere negli altri mammiferi da me esaminati, ciò che io ritengo, sia conseguenza della stazione eretta dell' uomo. Il lungo spinoso, sebbene abbia nell' uomo intimi rapporti col lungo dorsale, tuttavia non si deve considerare come un fascio del lungo dorsale, ma bensì come muscolo a sè, e che per la direzione delle sue fibre è da considerarsi come originato dal trasverso spinoso più che dal lungo dorsale.

Merita infine di essere notato, che contrariamente alle

descrizioni di taluno, il lungo spinoso tanto nel *Mus*, nel coniglio e nel gatto come nell'uomo non parte posteriormente da tendini propri, ma prende impianto nei tendini del lungo dorsale.

Bibliografia.

1. Cruveilhiér, Traité d'Anatomie descriptive. Paris, 1877.
2. Ph. C. Sappey, Trattato di Anatomia descrittiva. Traduz. italiana, Napoli, 1878.
3. H. Beaunis e A. Bouchard, Nuovi elementi di Anatomia descrittiva. Traduzione italiana, Milano, 1884.
4. Winslow, Esposizione anatomica della struttura del corpo umano. Traduz. dal francese, Venezia, 1767.
5. Gegembaur, Traité d'Anatomie humaine. Paris, 1889.
6. Quain I., Trattato completo di Anatomia Umana. Traduz. Italiana. Milano.
7. Testut, Trattato di Anatomia Umana. Traduz. ital., Torino, 1894.
8. Romiti G. Trattato di Anatomia dell'Uomo.
9. Poirier, Traité d'anatomie humaine. Paris.
10. Sperino, Anatomia del Cimpanzé. Torino, 1897-98.
11. Rathke, Zur Anatomie der Fische. Arcuiw f. Anat. und physiol, 1837
12. Duyes, Recherches sur l'osteologie et la miologie des batraciens aux differents ages. Paris, 1835.
13. Gegembaur, Manuel d'Anatomie comparée. Paris, 1874.
14. Debierre, Trattato elementare di Anatomia dell'Uomo. Traduz. italiana.
15. Debierre, Les Muscles spinaux posterieurs, leur valeur morphologique. (Journal de l'anatomie et de la physiologie. Paris, 1896).
16. Chauveau, Traité d'anatomie comparée des animaux domestiques, Paris, 1871.
17. Richard, Owen, On the Anathomy of vertebrates. London, 1866-68.
18. Hoffmann C. K., in « Bronns Klassem und Ordnungen des Thier-Reichs. III Abtheilung, Reptilien. Leipzig-Heidelberg, 1879.
19. Ellemberg et H. Baum, Anatomie descriptive et Topographique du Chien. Paris, 1893.
20. Traité d'Anatomie comparée pratique par Carl. Vogt et Emile Yung. Paris, 1888.
21. Favaro G., Ricerche sulla morfologia e sullo sviluppo dei muscoli gracili del dorso dei teleostei. (Archivio italiano di Anatomia Embriologia, Vol. I, fasc. 3°, 1902, Firenze).

Clinica Chirurgica della R. Università di Siena, diretta dal Prof. D. Biondi.

ISTOGENESI DI UN TUMORE MALIGNO CONNETTIVALE

PER IL

DOTT. SANTE SOLIERI

Aiuto.

(Con 2 tavole in litografia).

Nelle condizioni attuali della scienza riguardo alla etiologia e alla patogenesi dei tumori, ogni osservazione, che valga a portare un contributo anche modesto alla soluzione di tale problema, deve essere registrata, perchè sull'esame dai singoli casi potrà forse essere fondato il concetto vero della natura dei neoplasmi o altrimenti da nuovi studi potranno i fatti consacrati nella letteratura avere illustrazione. In generale è difficile per le condizioni e il tempo, in cui i pazienti si presentano al trattamento medico o chirurgico, seguire dal suo inizio il manifestarsi di un processo neoplastico o sfuggono per la poca perspicacia degli ammalati o perchè realmente inavvertibili e poco manifeste alcune circostanze che tuttavia possono avere avuto valore nella etiologia del processo morboso. Per lo più l'inizio di questi gravi malanni è completamente oscuro e insidioso, nè alcuna causa i malati riferiscono di aver dato o supposto possibile all'insorgere del male. Solo alcune volte, e non frequenti per vero, viene riferita la preesistenza di un trauma dove si sviluppò in seguito il tumore. Quando adunque sia ato possibile seguire l'evoluzione di un tumore e ancor più ıdiare fatti e fenomeni morbosi che hanno preceduto la sua ınifestazione e sembrano aver avuto con esso rapporto, se

non di causa ad effetto, almeno di successione palese, è utile indagare e minutamente studiare i momenti e gli stadî della sindrome morbosa allo scopo di trarne un po' di quella luce, che pur troppo in sì grave argomento fa assoluto difetto. Nella clinica chirurgica di Siena ho potuto seguire per circa due anni un malato, che avendo subìto da noi un atto operatorio per un'affezione, che sarà qui illustrata, è stato passivo in seguito di un tumore maligno. La natura di esso, la località e il modo di sviluppo ci fanno parere probabile un nesso fra la prima affezione, l'intervento operatorio e il consecutivo sviluppo del neoplasma, per cui faccio nota questa osservazione, che mi pare meriti di essere presa in considerazione.

Tommasî Giovanni, di anni 48, colono, di Asciano, entrò nel luglio del 1901 nella clinica chirurgica. Uomo di costituzione valida, immune da tabe ereditaria, senza passivi morbosi anamnestici. All'età di 12 anni l'infermo si era accorto di una intumescenza al lato interno della coscia in alto della grandezza di una ciliegia, di consistenza durissima, a superficie liscia, allungata d'alto in basso, a margini rotondi. Non ricorda, quantunque non lo escluda, se l'inizio del male fosse preceduto da un trauma locale o da uno sforzo esagerato di adduzione nel cavalcare o nel saltare. Fino a 25 anni il tumoretto era andato crescendo lentamente e uniformemente, per rimanere poi stazionario riguardo a volume, forma e consistenza da allora in poi. Quando l'infermo si presentò alla nostra osservazione, il tumore della grossezza di un piccolo uovo di gallina, disposto col maggior diametro secondo il corrispondente della coscia, era situato al lato interno di essa nella sua parte più alta circa un cm. al di sotto del solco genito-crurale, faceva sporgenza in modo da spostare la faccia corrispondente dello scroto; la pelle di ricoprimento era distesa, assottigliata, senza note infiammatorie. Alla palpazione si sentiva essere sottoaponeurotico, di consistenza dura, con una superficie pianeggiante rivolta verso gli strati profondi e l'altra esterna, convessa e abbastanza regolare. Era spostabile in massa più in senso laterale, non molto in senso longitudinale; la pelle di ricoprimento per la distensione era poco scorrevole, ma non fissata al tumore. La compressione, anche piuttosto energica, riusciva indolente. La formazione patologica fu anucleata il 13 luglio 1901.

Con taglio verticale al lato interno della coscia profondo all' neurosi si mise in evidenza ed apparve inglobata da una capsula li aspetto fibroso, che faceva parte del muscolo retto interno. Inci a

capsula, il tumore fu escisso; la capsula all'interno si presentava formata di tessuto connettivo denso, adulto, povero di vasi e quindi poco sanguinante; raggrinzandosi, perchè liberata dalla distensione forzata in cui la teneva il tumore, dava un aspetto simile a quello che offre lo stomaco dei polli aperto. Tale capsula fu lasciata in posto come innocua, a scopo anche di non sacrificare il muscolo retto, che le era strettamente aderente e la inglobava; poi con sutura a strati la ferita chirurgica fu chiusa.

Il tumore è di consistenza lapidea e ricorda grossolanamente la forma di un testicolo sormontato dal rispettivo epididimo (ved. fig. I). Presenta la superficie distinta in due parti ben limitate da due solcature opposte longitudinali, che sembrano impronte tendinee. La parte, che rispondeva ai tessuti profondi è scabrosa, irregolare con infossamenti, salienze ed erosioni, l'altra che guardava i tegumenti è liscia, regolare, convessa. Sezionato per mezzo colla sega, mostra una parte periferica più spessa, compatta e stratificata, ed una centrale meno densa e in alcuni punti spugnosa (ved. fig. II). Da piccoli cunei di sostanza presi dalla parte centrale e periferica si fanno preparati microscopici; decalcificazione in soluzione di acido cloridrico all'uno °/₀, inclusione in celloidina, colorazione con emateina ed eosina ed emateina sola.

Esame microscopico. — In alcuni punti i preparati mostrano ancora un residuo periferico della capsula, che involgeva il tumore. Essa è costituita da tessuto connettivo povero di vasi con cellule fusate a nuclei esili allungati; tali cellule diventano più stipate e disposte longitudinalmente nella parte in cui sono a contatto col tumore. In questo si osservano tre tessuti: *a*) una sostanza amorfa che si colora in bluastro coll'emateina, come le sostanze cretificate, distribuita in ammassi senza struttura come convoluti divisi da spazi e lacune irregolari in cui non si osservano affatto nuclei tingibili; *b*) tessuto osseo necrotico riconoscibile da persistenti lacune ossee rigonfie in una sostanza più o meno omogenea suddivisa da spazi, che per la regolarità si conoscono ancora come spazi midollari ma privi di elementi nucleari tingibili; *c*) tessuto osseo tipico in cui sono ancora bene tingibili i nuclei un po' impiccioliti entro le lacune ossee disposte in una sostanza finamente lamellare, che si colora in roseo coll'eosina. Tale tessuto osseo è più abbondante alla periferia del tumore, disposto in lamine attorno a spazi midollari contenenti midollo osseo adiposo con scarsi nuclei. Tale tessuto midollare è diretto a invadere il tessuto osseo necrosato e la sostanza cretificata. È possibile vedere in alcuni punti della periferia la trasformazione diretta delle cellule connettivali in cellule ossee. Difatti nella figura III si vede un tessuto connettivale lasso staccarsi dalla capsula di connettivo denso e approfondarsi nel tessuto del tumore disgregandolo. A un certo punto alcuni nuclei sono addossati per una delle loro superfici a una lamella di tessuto osseo, che quasi tappezzano, e più oltre tali nuclei sono

già tutti circondati di tessuto fondamentale lamellare osseo, nel quale sono immersi, essendo contenuti nella loro lacuna ben netta e delimitata.

Il paziente uscì dalla clinica guarito e non avvertì alla regione operata alcun fatto sino al marzo 1902, cioè otto mesi dopo l'intervento operatorio. In tale epoca comparve nei tessuti molli sotto la cicatrice operatoria un piccolo tumoretto della grossezza di un fagiolo di consistenza piuttosto molle, mobile, indolente alla pressione e nei ovimenti dell'arto.

Il tumore cresceva lentamente; nel maggio in uno sforzo di pressione fatto colla gamba al lavoro della vangatura, il Tommasi si sentì dolere la parte e la neoformazione aumentò in un quarto d'ora dal volume di una susina al doppio. D'allora in poi l'accrescimento si fece assai rapido sino a raggiungere in tre mesi circa il volume di una testa di feto. Non ha tuttavia cagionato mai dolori, nè disturbi notevoli nella deambulazione. Rientrato in clinica l'11 agosto 1902, cioè 13 mesi dopo la prima operazione e 5 mesi dopo essersi accorto dell'insorgenza del secondo tumore, presentò al nostro esame alla regione interna della coscia sinistra nella sua parte più alta, vicino al solco genito-crurale un tumore della grossezza di una testa di neonato, di forma piuttosto allungata col maggior asse disposto in senso longitudinale. La pelle di ricoprimento normale mostra la cicatrice chirurgica del precedente intervento ancora rosea. Essendo l'arto in posizione conveniente, sì da mettere in evidenza il triangolo di *Scarpa*, si nota che il tumore giace all'interno del medio adduttore e che l'inserzione tendinea del retto interno risponde nettamente al polo superiore della intumescenza. Alla palpazione la pelle è mobile sul tumore: questo è indolente, ha superficie regolare, di consistenza in alcune parti elastica, in altre fluttuante. È abbastanza mobile tra l'adduttore medio all'esterno e il grande adduttore e i muscoli posteriori della coscia all'interno; pare fissato dall'inserzione tendinea superiore del retto interno. Si fece diagnosi di sarcoma e il 13 agosto si procedette al secondo intervento. L'atto operatorio fu condotto in tal modo. Al lato interno della coscia, ma un po' anteriormente alla cicatrice residua della precedente operazione si incidono in senso verticale ampiamente pelle, cellulare sottocutaneo e aponeurosi di involucro. Si procede poi all'isolamento del tumore prima sui lati poi in basso ed in alto e allora si vede che il tumore è compreso nel muscolo retto interno. Infatti questo al polo superiore del tumore si sfibra, conservando tuttavia due masse principali, una interna maggiore e più aderente, l'altra antero-esterna minore e più lassamente aderente. Le fibre del muscolo si ricongiungono al polo inferiore continuandosi nel ventre muscolare normale. Isolamento del polo inf[illegible] tagliando per la massima parte in senso trasversale le fibre del retto; [illegible] l'alto il tumore si toglie in via ottusa assai facilmente dalla nicch[illegible] tessuto cellulare lasso formato dal medio adduttore al davanti e all'est[illegible] e dal grande adduttore posteriormente e all'interno. Con pochi col[illegible]

bisturi si compie l'isolamento in alto e restano a congiungere gli estremi tagliati solo poche fibre più del muscolo retto interno. Non si nota più traccia macroscopica della capsula fibrosa lasciata nel precedente intervento. Si sutura a strati lasciando drenaggio all'angolo inferiore della ferita.

Il tumore escisso irregolarmente globoso era della lunghezza di 13 cm. con una circonferenza massima di 22; pesava 232 grammi, avendo un volume di 230 c. c. Sezionato per mezzo non lascia avvertire sotto il tagliente alcun punto scricchiolante, che appaja calcificato. È di un tessuto giallo grigiastro come carne di pesce, piuttosto friabile e schiacciabile colla compressione digitale, e contiene cavità di varia grandezza irregolari e sinuose piene di un liquido siero-ematico gelatinoso. Tutto attorno è involto da una capsula dello spessore massimo di circa tre o quattro mm., in alcuni punti assai più esile, dove aderente e dove abbastanza facilmente isolabile. Si fanno preparati microscopici da parti periferiche, paracentrali e centrali; inclusione in paraffina, colorazione con emateina ed eosina. Il tumore è limitato da una listerella di tessuto connettivale (ved. fig. IV). La parte più periferica di essa è costituita da cellule fusate, con nuclei sottili allungati, in riposo, piuttosto stipate le une alle altre; sono abbondanti i vasi e lacune sanguigne. Nella zona più interna gli elementi connettivali, disgregati da numerosi capillari di neoformazione si trasformano, i nuclei si fanno più grossi, più ricchi di cromatina embrionali e passano negli elementi di tumore. La parte periferica è per la sua costituzione istologica tutt'affatto simile alla capsula, che involgeva il primo tumore osseo, solo si osserva maggiore ricchezza di spazi sanguigni, ed è probabile che di essa sia il residuo ed in parte la trasformazione. Negli strati più vicini alla capsula il tumore è costituito da cellule connettivali fusate e stellate. I nuclei sono embrionali ricchi di cromatina; si osservano molti stadi di moltiplicazione nucleare amitotica. I vasi sanguigni sono abbondanti, senza pareti organizzate, ma limitati da un unico strato endoteliale e da tessuto di tumore all'intorno; molte volte appaiono proprio quali lacune grandi, irregolari, piene di sangue in mezzo agli elementi neoplastici. In alcuni punti (ved. fig. V), specialmente nelle parti centrali, gli elementi sono rari, distanziati in mezzo ad una sostanza fondamentale mixomatosa con fine reticolo e si anastomizzano fra loro con le propaggini protoplasmatiche. I nuclei fissano incompletamente la sostanza colorante, i vasi vi sono più scarsi. Sono evidentemente zone in cui la nutrizione è meno attiva e vi è degenerazione parziale degli elementi.

Riassumendo abbiamo adunque innanzi un sarcoma a cellule fusate stellate a rapido sviluppo con parziale degenerazione centrale mixomatosa e con prevalente sviluppo centripeto da un tessuto connettivale atrice disposto quasi a capsula alla periferia. Si sono fatti preparati ol metodo *Gram* e *Sanfelice* per la ricerca dei bacteri e dei blastomiceti n risultato negativo.

Il malato lasciò la clinica guarito il 2 settembre 1902, ma l'11 dicembre ritornava a noi, cioè 4 mesi appena dopo il secondo intervento. Riferisce che quindici giorni innanzi, palpandosi la regione operata, aveva sentito al lato interno della coscia in alto quasi sotto l'estremo superiore della cicatrice un tumoretto della grossezza di un cece. Esso era andato poi crescendo rapidamente più che altro nel diametro longitudinale. Quantunque non avesse disturbi nè per dolore locale, nè per ostacolo alla deambulazione, era tornato sì tosto in clinica per timore, essendo edotto dalla volta precedente sulla evoluzione del male. Al nostro esame risulta che al lato interno della coscia subito sotto il solco genito crurale in corrispondenza della parte superiore dell'ultima cicatrice operatoria esiste un tumoretto della grossezza e forma di un uovo di piccione disposto in senso verticale. Esso nella posizione eretta viene ricoperto completamente dalla faccia laterale sinistra dello scroto. La pelle di ricoprimento, tolta l'esistenza delle cicatrici chirurgiche, è normale. Mettendo il paziente colla coscia abdotta rotata all'esterno, colla gamba flessa e incrociata sulla sinistra, si mettono in evidenza i componenti del triangolo di *Scarpa* e all'interno il muscolo retto interno, che sporge nettamente come un cordone fra i suoi punti di inserzione. Il tumore occupa proprio la parte più alta di tale muscolo al di sotto appena della sua porzione tendinea e sporge fra il medio adduttore all'esterno e la cicatrice del secondo intervento all'interno. Alla palpazione si conferma la sede del tumore. Questo è indolente, di consistenza elastica, spostabile in senso laterale, poco in senso verticale. Sotto il tumore nella spessezza del muscolo retto interno si sente un indurimento di consistenza fibrosa, che fa l'impressione di essere costituito dal tessuto cicatriziale residuato nel muscolo in seguito alla precedente operazione. Diagnosticata recidiva di tumore sarcomatoso, si interviene il giorno successivo all'ingresso del paziente in clinica coll'intenzione di procedere all'estirpazione più radicale possibile. Infatti, incisi i tessuti molli di comune integumento, si prepara in alto l'inserzione pubica del retto interno che viene scollato col periostio dal punto di attacco e con colpi di forbice si escide tutto il tessuto di cicatrice e il tessuto cellulare dello spazio compreso fra il medio e il grande adduttore, sezionando poi trasversalmente e completamente in basso il muscolo retto su fibre macroscopicamente del tutto integre. Sutura a strati senza drenaggio; la ferita guarì per prima ed il paziente uscì pochi giorni dopo guarito.

Il pezzo patologico escisso ha una forma allungata; nella parte più alta subito sotto la inserzione superiore del muscolo risiede il tumoretto della grossezza di un piccolo uovo di piccione di consistenza elasti fluttuante; la parte inferiore è costituita da un residuo muscolare e catriziale infiltrato di sangue. Il tumore alla sezione presenta un cont nente od involucro, da cui esce liquido ematico, che sfugge con forz essendo contenuto sotto tensione ed un corpo libero centrale, che pa-

all'aspetto macroscopico un grosso coagulo fibrinoso in fase piuttosto avanzata di organizzazione. Si fanno inclusioni in paraffina dall'involucro, dal contenuto solido e dal tessuto della parte sottostante. Colorazione con emateina ed eosina e col metodo *Weigert* per la fibrina. L'involucro è formato da due zone principali limitate da una terza intermedia, da una listerella cioè di tessuto connettivale fascicolato coi nuclei in varie fasi di attività, che ricorda la capsula di rivestimento del primo tumore osseo e del secondo sarcomatoso. Verso il lato interno le cellule di tale capsula si trasformano, prendendo tipo embrionale, in elementi di tumore, i quali, infiltrando un sottile strato di tessuto adiposo si uniscono poi a costituire la massa neoplastica che forma la zona interna. Questa è data da un tessuto con cellule connettivali embrionali fusate a nuclei giovani, ricchi di cromatina e vasi abbondanti senza pareti organizzate. Nella parte più intima le cellule di tumore si fanno appiattite, stipate, col maggior asse parallelo alla superficie dell'involucro e sono picnocromatiche. Il metodo *Weigert* mostra una listerella di fibrina apposta alla faccia interna dell'involucro stesso.

La zona esterna è di tessuto connettivale dove fascicolato, dove lasso con molte zolle adipose e residui di fibre muscolari degenerate. A livello della capsula o zona intermedia si notano moltissime cellule eosinofile, portato della flogosi concomitante il neoplasma nella parte periferica e zone emorragiche in cui il metodo *Weigert* rivela molta fibrina. Il contenuto è pure costituito da tessuto di tumore analogo a quello che costituisce la parte interna neoplastica dell'involucro, solo ne differisce perchè in molti punti i nuclei sono poco tingibili, mostrando uno stato di deficiente nutrizione. Fatte sezioni trasversali di parti del tratto inferiore del pezzo estirpato si rilevano fasci di fibre muscolari in parte normali, in parte degenerate; è possibile seguire varie fasi di degenerazione della fibra muscolare. Si osservano anche cellule giganti, alcune però non sono altro che l'espressione di fibre muscolari degenerate con proliferazione dei nuclei del sarcolemma, altre cellule giganti attorno a corpi estranei costituiti da filamenti di garza rimasti dal drenaggio posto all'atto del secondo intervento. In molti punti vaste zone emorragiche dividono fasci da fasci muscolari e talora fibra da fibra isolandole l'una dall'altra.

La sintesi di tali osservazioni è che siamo di fronte ad una recidiva del tumore sarcomatoso estirpato nella seconda tornata del paziente in clinica. L'apparenza di un contenente e di un contenuto in parte liquido, in parte solido si deve mettere in rapporto con una emorragia avvenuta nella spessezza del tumore, che ne ha isolato una parte centrale. È difficile dire, quantunque non si possa escludere, se questa parte sia rimasta per un certo tempo in rapporto col resto del neoplasma per mezzo di un peduncolo o di vasi sanguigni esili che si possono essere lacerati per i maltrattamenti a cui il paziente può avere assoggettato il tumore colla

palpazione o altrimenti. Il nucleo centrale ad ogni modo è rimasto in condizioni deficienti di nutrizione, come risulta dall'osservazione microscopica. La parte di tumore spinta perifericamente dalla emorragia, per la compressione resa anche maggiore dalla continua neoformazione cellulare, prende l'aspetto di un involucro con disposizione stratificata degli elementi neoplastici. Le ricerche fatte col metodo *Gram* e col metodo *Sanfelice* per mettere in evidenza bacteri o blastomiceti riuscirono negative. Le lesioni, che si osservano nel muscolo al di sotto del tumore, sono da esso indipendenti. Però, ammettendo pure che esse stiano in rapporto sia col secondo atto operatorio sia coll'ultimo con cui si estirpò il tumore, colpisce la cospicua infiltrazione emorragica in esso, che non suole notarsi nei tessuti normali e nella maggior parte dei patologici estirpati con operazioni anche molto cruenta.

Riassumendo adunque la serie dei fenomeni morbosi in tutto il loro ciclo, quale ci è stato possibile seguire, constatiamo: sviluppo del primo tumore nello spazio di 13 anni, suo periodo stazionario di 25 anni, estirpazione dopo 38 anni dal suo primo manifestarsi; inizio avvertibile del secondo tumore otto mesi dopo la prima operazione, rapido accrescimento nello spazio di cinque mesi, estirpazione 5 mesi dopo la comparsa del male; recidiva dopo tre mesi e mezzo.

È necessario, data la successione di queste manifestazioni nella stessa regione anatomica ed operatoria, indagare se ci troviamo di fronte a vari stadi di una stessa forma morbosa, o piuttosto a processi morbosi diversi tra loro legati da condizioni speciali patogenetiche. Premettiamo anzi tutto che il tempo di malattia può essere diviso a nostro parere in due periodi, l'uno che va dall'inizio del primo tumore alla prima operazione, il secondo che comincia dalla prima operazione sino ad ora e che forse ancora non è chiuso. Che tra il secondo tumore e il terzo vi sia un legame assai stretto non è dubbio poichè il terzo non è altro che la recidiva di un neoplasma sarcomatoso, come dimostrano i preparati dell'uno e dell'altro, recidiva che il decorso clinico aveva fatto, se non prevedere, per lo meno temere. È da discutersi p quali ragioni la prima operazione si può ritenere punto divisione fra i due periodi della sindrome e forse anch *trait d'union* fra di essi. Ma la discussione di questo arg

mento ci porta più addietro, a interpretare cioè la natura del primo tumore e a valutarne i momenti istogenetici.

Abbiamo visto che si presenta costituito di tessuto osseo in varie condizioni di vitalità e di nutrizione, e di tessuto calcificato involti e limitati da una capsula fibrosa. Tale costituzione di tumore nella spessezza di un muscolo ci richiama alla mente i così detti « osteomi muscolari ». Tali formazioni morbose sogliono avere per sede in generale o il grande adduttore (*Reiterknoche* di *Billroth*) o il deltoide e il brachiale anteriore (*Exercirknochen*) e riconoscono la loro etiologia in un traumatismo, sia uno sforzo violento di adduzione dell'osteoma dei cavalieri del grande adduttore, o il ripetersi di molti colpi di poca entità nell'osteoma del deltoide e del brachiale anteriore nei soldati di fanteria per la manovra del fucile. Gli autori, che hanno illustrato questa forma morbosa, non si trovano d'accordo riguardo alla patogenesi. Così *Sieur* (1), *Berthier*, *Berger* (2), *Berndt* (3) ammettono che uno sforzo muscolare esagerato possa distaccare dalla sua continuità una lacinia di periostio, la quale entro la spessezza del muscolo continua la sua funzione osteogenetica. A queste vedute si oppongono tuttavia i dati positivi di *Delorme* (4), che, avendo sperimentato sul cadavere, vide che per provocare distacco di periostio o di scheggie ossee a livello del tendine degli adduttori era necessario un peso di 130-150 kg., che sorpassa sicuramente ogni misura fisiologica.

Onde molti autori (*Schmiz* (5) ecc.) ammettono, specialmente negli osteomi a lungo periodo di sviluppo, che in seguito ai traumi ripetuti si stabilisca nel muscolo un versa-

---

(1) Sieur, *Des osteomes musculaires.* (VIII Congrès Franç. de Chir., Seance 10 Oct. 1894, Lyon).

(2) Berger, *Sur l'ostèome des cavaliers.* (Bull. et mém. de la Soc. de Chir. de Paris, T. XIX, pag. 758).

(3) Berndt I. *Zur Frage der Betheiligung des Periost bei der Muschelverknocherung nach einmaligen Trauma.* (Centralblatt für Chir., n. 10, pag. 275, 1902).

(4) Delorme, *Des ostèomes et en particulièr des ostèomes des cavaliers.* (Soc. de Chir., Séance 4 juill., 1894, Paris).

(5) Schmiz, *Beitrag zur Myositis ossificans traumatica.* (Centralblatt. f. Chir., n. 13, pag. 373, 1902).

mento sanguigno, nel quale per metaplasia le cellule del tessuto connettivo, che invade l'ematoma stesso, diano tessuto osseo. Nel nostro caso, basandoci sul reperto istoanatomopatologico (chè sui dati anamnestici troviamo poco fondamento, non ricordando il malato fatto alcuno inerente all'inizio del tumore), possiamo arguire che in seno al muscolo retto interno si sia primitivamente trovata una sostanza o tessuto, che, per le condizioni di nutrizione, in cui è venuto a trovarsi, è andato incontro a degenerazione jalina. Quale fosse questa sostanza o tessuto non ci permettono i preparati microscopici di argomentare con sicurezza, ma probabilmente si è trattato di un ematoma, che, prodottosi in seguito a un trauma magari inavvertito, anzichè riassorbirsi, ha subìto un addensamento o un isolamento da parte di tessuto connettivo, che si è organizzato all'intorno, limitando lo scambio dei succhi nutritizi e favorendo per ciò la degenerazione. Non dobbiamo tuttavia lasciare di farci l'obbiezione che, se si fosse trattato di un coagulo sanguigno, avrebbe con tutta probabilità dovuto persistere il pigmento ematico, il quale sotto forma di ematoidina permane indefinitamente nei focolai emorragici. Comunque in questo tessuto degenerato e incapsulato da connettivo facentesi sempre più adulto, si è avuto calcificazione, come è sorte comune di essudati, focolai emorragici e infiammatori o corpi estranei abbandonati in mezzo ai tessuti viventi. Ma la capsula limitante, sorta per la flogosi reattiva alla presenza del primo tessuto morboso caduto in degenerazione, ha preso di fronte ad esso una nuova attività per le nuove condizioni in cui si è trovato per la presenza dei sali calcari. Essa cioè, per metaplasia dei suoi elementi connettivali, ha generato osso, che ha invaso parzialmente il tessuto calcificato. È noto infatti che la presenza di sali calcari favorisce lo sviluppo del tessuto osseo. Ma il tessuto osseo neoformato per le cattive condizioni di nutrizione, in cui si trovava man mano che si affondava nel tessuto calcificato allontanandosi dalla capsula generatrice andava in necrosi ed era alla sua volta invaso da osso di nuova formazione da parte della capsula, che continuava lei

tamente ad avere la metaplasia osteogenica dei suoi elementi. Il processo di metaplasia noi abbiamo colto nei preparati istologici ed è illustrato alla figura III.

Questa successione istogenetica rassomiglia in parte a quella che gli autori contrari alla genesi periostale degli osteomi muscolari ammettono, e vale come contributo dimostrativo nella dibattuta questione della loro patogenesi. Ho detto tuttavia in parte, perchè negli osteomi muscolari tipici la origine dell'osso da una capsula connettivale non è stata dimostrata per il fatto essenziale che per lo più non esiste ad essi capsula limitante, tanto è vero che trattatisti e scrittori di monografie citano la difficoltà con cui l'osteoma suole distaccarsi dalle fibre muscolari, e la sua superficie molte volte rugosa, scabra e ricca di prolungamenti ed osteofiti. È noto ancora che spesso l'osteoma prende la massima parte di un ventre muscolare, ripetendone la forma. Non è dunque nostro concetto voler ascrivere il primo tumore decisamente fra gli osteomi dei cavalieri, differendone per molti caràtteri importanti, come sopra si è detto, e per la sede, che non è la più comune propria di tali formazioni morbose.

Solo questo caso trova il suo appoggio per la illustrazione nelle vedute di altri osservatori rispetto a tali prodotti e può ad essi portare fondamento positivo nei rapporti patogenetici. Ciò che, a nostro avviso, è del massimo interesse per spiegare le ulteriori manifestazioni neoplastiche è la constatazione della parte attiva in cui erano gli elementi della capsula. Le sue cellule infatti, quantunque in esigua proporzione e direi quasi in uno stato di sublatenza, erano in funzione riproduttiva molto abnorme, quale sarebbe la metaplasia in elementi ossei, cioè di una specie di connettivo più evoluto. Questa capsula fu lasciata in posto all'atto della prima operazione. Da essa è supponibile che sia sorta la seconda neoplasia, ed è per ciò che la prima operazione segna per noi un unto di divisione fra i due periodi della sindrome neoplasica. Sicuramente gli elementi cellulari della capsula per il tto dell'allontanamento dell'osteoma, che faceva compressone limitando il circolo sanguigno, si debbono essere tro-

vati in condizioni di nutrizione assai più floride e più adatte per moltiplicarsi attivamente. Ora non è difficile che, trovandosi già in aberrata attività di neoformazione, abbiano deviato ancora più dalla tipicità, dando luogo alla formazione di un tumore maligno connettivale sarcomatoso. Ricordo a tale proposito le teorie del *Ribbert* sul risveglio delle attività neoformative latenti a proposito della istogenesi dei tumori e il manifestarsi delle proprietà di rigenerazione nel campo della tipicità dei tessuti connettivali in tutte le riparazioni delle perdite di sostanza di tessuti od organi. A suffragio di tali vedute ricordiamo che il primo tumore era in uno stato quasi stazionario da molti anni e che se non si fosse disturbato coll'intervento chirurgico, abbandonando la capsula in sito, probabilmente sarebbe rimasto in posto innocuo, come sino allora era stato. Inoltre all'atto della seconda operazione non è stato più possibile riconoscere ad occhio nudo residuo o traccia della capsula lasciata, la quale, essendo spessa e di superficie piuttosto estesa in un muscolo così piccolo e in località ben determinata, doveva essere reperibile ancora come un denso cordone fibroso. Invece al posto, dove essa era o doveva essere, fu trovato il grosso tumore, che è stato descritto, al quale è involucro uno strato connettivale, che per la somiglianza istologica, alterata solo da una maggiore irrorazione sanguigna, che la decompressione dall'osteoma spiega come necessaria, si deve ritenere il residuo della capsula già accennata, che sarebbe altrimenti scomparsa contro ogni legge di patologia generale. La possibilità che la genesi del tumore sia in rapporto con una infezione specifica avvenuta al momento della prima operazione, secondo i concetti del *Coley* [1] e di qualche altro partigiano della teoria parassitaria dei tumori maligni, viene eliminata, oltre che dall'esame bacteriologico, dallo studio istogenetico riferito e dalla considerazione che ben più frequentemente nei nostri numerosissimi operati dovremmo osservare tali infezioni. Nello sviluppo di questo t

---

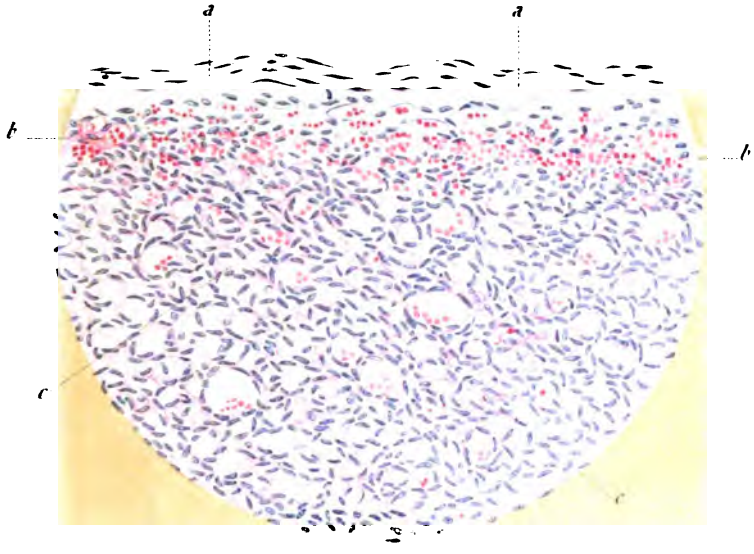
[1] W. B. Coley, *The influence of inyury upon the development of sarcom* (Annals of surgery, 1898 Mars.)

1.

2.

3.

4.



5.

more sarcomatoso avrebbe avuto importanza capitale per la istogenesi lo stato abnorme di cellule connettivali in attività di metaplasia osteogenica, che, per la nutrizione aumentata in seguito a un trauma chirurgico, si cambiò in neoproduzione di elementi cellulari atipici embrionali con caratteri di malignità. Tenterò in avvenire di riprodurre sperimentalmente, per quanto è possibile, le condizioni in cui si trovò la capsula matrice del neoplasma, dopo estirpato l' osteoma. Mi basta per ora, senza voler fondare nuove teorie sulla patogenesi dei tumori maligni, avere illustrato questa osservazione, molto più che, scorrendo la letteratura, di cui potevo disporre, non mi è stato possibile trovarne altra analoga.

Spiegazione delle figure.

FIGURA I. — Osteoma muscolare del retto interno crurale destro. Grandezza naturale.

FIGURA II. — Lo stesso osteoma sezionato per mezzo colla sega. Grandezza naturale

FIGURA III. — Verick. obiet. 4, oc. 5. — Emateina. — Osteoma nella parte periferica: *a*) sostanza cretificata; *b*) residuo della capsula connettivale dell' osteoma; *c*) gettone connettivale che si affonda nella sostanza cretificata e dà luogo per metaplasia alla lamina ossea *d*.

FIGURA IV. — Verick. obiet. 7, oc. 2. — Emateina, eosina. — Sarcoma sviluppatosi nel retto interno crurale destro dopo l' estirpazione dell' osteoma. Parte periferica: *a*) capsula connettivale; *b*) zona in cui gli elementi della capsula sono disgregati da ricca neoformazione vasale; *c*) tessuto di tumore sarcomatoso a cellule fusate e stellate.

FIGURA V. — Verick. obiet. 7, oc. 2. — Emateina, eosina. — Lo stesso sarcoma in un punto centrale con degenerazione mixomatosa.

RENDICONTI

DELLE

ADUNANZE DELL' ACCADEMIA MEDICO-FISICA FIORENTINA

Resoconto sommario delle sedute.

Adunanza pubblica del dì 19 Marzo 1903.

Presiede il Prof. G. MYA, *Consigliere.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Banchi, Banti, Bufalini, Capei, Celoni, Chiarugi, Del Greco, Fairman, Flora, Giuntoli, Levi, Livini, Lugaro, Lustig, Picchi, Pieraccini, Salaghi, Tanzi, Radaeli.

Non essendovi comunicazioni all'ordine del giorno, il Presidente dà la parola al **Dott. Pieraccini**, il quale svolge la proposta che l'accademia nomini una commissione coll'incarico di studiare il progetto di legge sull'ordinamento dei manicomî che sta avanti al Senato. In appoggio alla sua proposta il Dott. Pieraccini ricorda l'azione utilmente spiegata dall'Accademia in occasioni consimili come quando discutevasi alla Camera dei Deputati il progetto di legge sui vaccini ed i sieri.

Il **Prof. Tanzi** appoggia la proposta del Dott. Pieraccini ritenendo che l'interessamento della nostra Accademia possa contribuire a dare al progetto di legge una intonazione sempre più liberale e più consona alle esigenze della scienza.

Il **Prof. Chiarugi** crede che prima di nominare una commissione venga discutere la quistione in seno all'Accademia. Chiede perciò venga posto all'ordine del giorno della prossima adunanza.

La proposta del Prof. Chiarugi è accettata.

Il **Prof. Lustig** propone che si dia incarico a uno o più soci di preparare per la prossima adunanza una specie di relazione che ponga i soci al corrente della quistione che si deve discutere.

Il **Presidente** prega il Prof. Tanzi e il Dott. Pieraccini di occuparsi di questa relazione.

Il **Prof. Banti** propone che si studi una modificazione dell'art. 13° dello Statuto, dal quale non risulta in modo abbastanza chiaro se le relazioni presentate dalle Commissioni incaricate di studiare le quistioni scientifiche o pratiche che sorgono in seno alla Accademia, possono essere o no discusse dalla Accademia. Egli crede che queste relazioni dovrebbero essere discusse e quando sembri opportuno anche sottoposte a una votazione.

Il **Presidente** porterà la proposta del Prof. Banti al Consiglio Direttivo.

Flora. — *L'esame radioscopico nella diagnosi degli aneurismi latenti dell'aorta toracica.*

In due casi trovò specialmente utile l'esame radioscopico: in uno la diagnosi più ovvia sarebbe stata quella di crisi laringee tabetiche, e trattavasi di aneurisma della porzione posteriore dell'arco in soggetto tabetico; in un altro la rachialgia pareva di natura nevrosica ed era dovuta ad un aneurisma dell'aorta discendente.

Il Vice-Segretario degli Atti
RADAELI.

Adunanza pubblica del dì 7 Maggio 1903.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: AZZURRINI, BANTI, BANCHI, BUFALINI, BURCI, CELONI, FAIRMAN, GUIDI, LIVINI, MARCACCI, MYA, ORLANDINI, RADAELI, ROSSI, STORI, TONARELLI, TORSELLINI.

Commemorazione del Prof. Fr. Colzi.

Prof. Fano, presidente. — È poco più di un mese da che il nostro S ıio e Consigliere **FRANCESCO COLZI** ci ha lasciato fra il compianto e l mmirazione universali. Nessuno mai meritò consenso di dolore e di

plauso più di Lui che nella vita operosa ed utile fu sempre condotto dal sentimento delle sofferenze altrui, dal desiderio di attenuarle o di rimoverle, dedicando a questo scopo fra i più nobili della vita le agili e poderose virtù dell'intelletto e del corpo. Colpito tragicamente nell'ordigno della sua missione e della sua passione, prima, fra le sofferenze atroci di un'agonia consapevole, poi, egli ci ha dato l'esempio di uno stoicismo quasi terrorizzante per la sua potenza più che umana, vincendo così il fato terribile che fiaccò l'animo di noi tutti, non il suo. Onore a Lui, al forte nella lotta per la vita, al fortissimo innanzi al dolore ed alla morte.

Di Francesco Colzi vi parlerà degnamente e particolarmente Guido Banti, sicchè io avrei potuto tacermi. Perdonatemi se non ho potuto trattenere completamente gli impulsi del mio cuore angosciato!

Prof. G. Banti. — Con l'animo straziato dal dolore compio oggi il mesto ufficio di commemorare innanzi a Voi **F. COLZI.**

Quando, giovanetti entrambi, percorrevamo insieme gli studî classici e gli universitari; quando, già medici, parlavamo dell'avvenire e i momenti della speranza e dello sconforto si alternavano nei nostri discorsi; quando, dopo avere raggiunto quella posizione, alla quale avevamo aspirato in tutta la forza della nostra volontà, discutevamo sulle ricerche che ci tenevano occupati; ah! non avrei allora mai immaginato che a me fosse riserbato un giorno questo doloroso ufficio; non avrei mai immaginato che l'Amico carissimo, il Collega insigne, sarebbe stato rapito al nostro affetto ed alla nostra estimazione, sarebbe stato rapito quando, nel pieno del vigore fisico ed intellettuale, poteva ancora per tanti anni dare prova della gentilezza dell'animo e dell'altezza della intelligenza!

F. Colzi non è più, ed il dolore della sua perdita è reso anche più acuto per il modo come la perdita avvenne.

Ferito per un disgraziato accidente al braccio destro il 25 marzo, Egli è dovuto soccombere il 4 aprile dopo una inenarrabile serie di atroci sofferenze del corpo e dell'animo. Le complicanze le più maligne sembravano essersi dato convegno su quel povero braccio, che aveva compiuto opere così mirabili, che sempre pronto a soccorrere chi soffriva, aveva a tanti ridato la salute e la vita. La suppurazione putrida, l'edema maligno, la gangrena dell'arto e poi, ultimo ed inesorabile, il tetano, che, sfidando ogni mezzo di cura, compì l'opera di distruzione.

Sereno in mezzo a questo straziante succedersi di mali, F. Colzi tutto sopportò con calma eroica. Egli vide sempre il proprio stato con l'occhio infallibile del Clinico. Egli a tutti i sintomi, dei quali soffriva, dette sempre il giusto valore, e quando il 31 marzo si manifestarono le prim trazioni tetaniche, mi diceva: *questo è tetano; tra quattro giorn morto*, e mi affidava le sue ultime disposizioni. Nè si confonda tan renità con l'indifferenza, nè si creda che la perdita del braccio d gli facesse desiderare la morte: no, Egli si sarebbe rassegnato all

e l'avrebbe anche desiderata, perchè Egli aveva un affetto supremo, una suprema devozione, quella del Padre e per risparmiargli il dolore della sua morte, avrebbe anche accettato di vivere senza un braccio. No, Egli non desiderò la morte, ma la guardò in faccia senza debolezza e morì serenamente, come serenamente aveva sopportato le inaudite sofferenze della malattia.

* * *

Francesco Colzi nacque in Monsummano il 16 febbraio 1855. Nel 1871 cominciò gli studii medici nella R. Università di Pisa e in questa città percorse i primi quattro anni universitari: nel 1875 venne nel R. Istituto di Studî Superiori di Firenze e il 17 luglio 1877 conseguì la laurea.

Nel novembre dello stesso anno, in seguito a concorso, fu nominato Astante nella Sezione Chirurgica del R. Arcispedale di S. Maria Nuova in Firenze e per un triennio prestò servizio in qualità di Assistente nei Turni Chirurgici.

Nel novembre 1879 fu, pure per concorso, nominato Assistente nella nostra Clinica Chirurgica, ove rimase per un biennio.

Le straordinarie disposizioni chirurgiche, già in Lui rivelatesi, mentre era studente, ebbero campo di esplicarsi in questi due uffici, nei quali si dimostrò operatore abilissimo tanto da acquistarsi l'affetto e la stima di tutti i Chirurghi primari nello spedale e in modo speciale l'affetto e la stima dell'illustre Clinico Giuseppe Corradi.

Ma Francesco Colzi comprese che non sarebbe riuscito a raggiungere una posizione eminente se alle cognizioni cliniche ed alle attitudini operative non avesse dato una solida base di patologia. Perciò, vinto il concorso Tacchini, si recò nel 1881 per due anni all'estero, visitando le cliniche di Parigi, di Londra, di Vienna e di Germania: soprattutto Egli si fermò in Lipsia ed entrò nel Laboratorio di Patologia Generale e di Anatomia Patologica. Quivi, sotto la guida del Cohnheim e più del Weigert, che gli divenne amico, coltivò con amore e perseveranza gli studî d'istologia e d'anatomia patologica. Tornato in Firenze nell'estate del 1883, Egli volle consolidare gli studî incominciati e per 4 anni, cioè dal novembre 1883 al novembre 1887 fu 2° Dissettore nell'Istituto di Anatomia Patologica. In questo ufficio Egli acquistò una solida cultura di anatomia patologica, di batteriologia e di patologia sperimentale.

Nel novembre 1887 fu dal Prof. G. Corradi scelto Aiuto nella Clinica Chirurgica; nel 1891 ottenne per titoli la libera docenza in clinica chirurgica ed in medicina operatoria: nel gennaio 1893 fu, in seguito a concorso, nominato Professore di Clinica Chirurgica nella R. Università di Modena.

Nel dicembre 1893 la nostra Facoltà lo chiamava in Firenze e gli affidava l'insegnamento della Clinica operativa. Così venivano appagati

anche i desideri del suo maestro Prof. Corradi, che aveva per il Colzi un affetto paterno ed una stima illimitata e che conoscendone a fondo l'onestà dell'animo, l'elevatezza intellettuale, e le inarrivabili doti di patologo e di operatore, desiderava in Lui avere il proprio successore.

Infatti nel novembre 1897 il prof. G. Corradi si ritirava dall'insegnamento e Francesco Colzi diveniva professore di Clinica chirurgica.

Nella Clinica di Modena e più in quella di Firenze, F. Colzi trovò un campo degno della sua intelligenza, della sua cultura, della sua attività; — un campo nel quale ebbero piena esplicazione quelle doti eminenti che, ricevute in dono dalla natura, Egli aveva saputo con studio perseverante ed assiduo, educare e perfezionare in modo da renderle meravigliose.

Operatore eccellente tra gli eccellenti, Francesco Colzi riuniva in modo supremo le doti più pregevoli di un chirurgo; rapidità, eleganza, sicurezza. Le operazioni più ardue come quelle sull'addome e sui centri nervosi, venivano da Lui eseguite con mirabile precisione: qualunque difficoltà incontrasse, anche se inattesa, Egli la dominava con rapida e sicura decisione, con mano abituata a vincere i più ardui ostacoli operativi. I successi più brillanti erano il degno coronamento delle sue operazioni e, senza taccia di esagerare, può affermarsi che dalle ferite, che il suo sapiente coltello faceva, erano bandite le complicanze infettive e che ai suoi operati rimaneva ignota anche la semplice suppurazione.

Appassionato ed instancabile operatore, tanto da resistere per molte ore di seguito in operazioni successive, Egli non aveva però quelle monomanie operatorie per le quali alcuni chirurghi mutilano senza bisogno i malati o ne pongono a repentaglio la vita. Nessuno forse fu al pari di Lui cauto prima di decidersi ad adoperare il coltello: Egli, innanzi di operare, voleva avere il convincimento della indicazione assoluta dell'atto operativo ed è meraviglioso come Egli, seguendo queste norme, mai facesse un'operazione superflua e mai trascurasse o ritardasse un'operazione che fosse necessaria. Il suo istinto finissimo di clinico, nutrito dai forti studi di patologia, gli servì sempre di guida infallibile nel giudicare *se* e *quando* un atto operativo era da intraprendersi.

Altro merito insigne di Francesco Colzi, merito che deve venire segnalato e posto in rapporto con le tendenze di chirurghi anche eminenti, fu che Egli aborriva dall'operare senza prima aver fatto un'esatta diagnosi della malattia. Sorprendeva il vedere come Egli, tanto abile e fortunato operatore da potere certo più di altri rischiare un atto operativo, rifuggisse dagli ardimenti, oggi così comuni, delle operazioni esplorative. Prima di prendere il coltello, Egli voleva possedere la gnosi e per ottenerla esaminava con cura scrupolosa e con tutti i me moderni d'indagine i malati: discuteva in ogni loro parte i fatti r colti, valutandoli come dalla sua scienza inesauribile di Patologi dalle sue vaste esperienze gli veniva suggerito e sotto l'analisi mi

ziosa ed acuta i sintomi si elevavano a segni della malattia e la diagnosi scaturiva in ultimo limpida e chiara.

La Clinica era la sua casa, i suoi malati erano la sua famiglia e in questa casa e presso questa famiglia trascorreva la massima parte delle sue ore. Rude alquanto per carattere, Egli aveva però tesori d'affetto inesauribile per i suoi infermi, e quando alcuno era in pericolo di vita, Egli non aveva pace, non già per il timore di un insuccesso operatorio, ma per l'affetto intenso che nutriva per i suoi operati, che Egli considerava come propri figli. Schiavo del dovere di clinico e d'insegnante, Egli non si curava affatto dell'esercizio professionale privato, e, mentre avrebbe potuto raccogliere una vistosa fortuna se avesse voluto mettere a prezzo l'opera sua, è morto in quelle medesime condizioni economiche, nelle quali si trovava al principio della sua carriera. Ciò non ha sorpreso chi lo conosceva, poichè a tutti era noto quanto fosse difficile che si lasciasse indurre ad abbandonare un malato della Clinica o una lezione per una visita privata; perchè a tutti era noto come nelle ore di libertà Egli prestasse l'opera sua con uguale sollecitudine tanto al ricco, quanto al povero, dal quale non poteva sperare alcun compenso.

* * *

È molto raro il vedere riunite in un medesimo chirurgo la qualità di abilissimo operatore e quella di distinto patologo: Francesco Colzi possedè in modo eminente ambedue queste doti.

Di ogni malato che cadeva sotto la sua osservazione, Egli completava sempre lo studio clinico in tutte le ricerche d'istologia, di batteriologia, ecc., che erano del caso. In tal guisa Egli sempre poneva in esatto confronto i sintomi con le lesioni e con le cause e da questo studio minuzioso seppe trarre un tesoro inesauribile di esperienza clinica e di cultura di patologia, che gli permetteva di orientarsi subito nei casi più difficili e di scegliere subito la via che meglio lo poteva condurre alla soluzione dei più intricati problemi.

Egli era poi sperimentatore inarrivabile poichè alla manualità perfetta accoppiava un giustissimo criterio sull'indirizzo da dare all'esperienza e sui modi di modificarla e variarla secondo i risultati ottenuti. Senza prevenzioni sul fine da raggiungere, Egli si proponeva serenamente la questione da risolvere e sapeva scegliere i mezzi atti a conseguire lo scopo.

Non sono pochi gli scritti di Francesco Colzi, i quali documentano in modo irrefragabile la sua valentia di Patologo e di Chirurgo. Non intendo ora prender questi scritti in esame, ma desidero solo ricordarne alcuni, i quali emergono sopra gli altri.

Nel campo della Chirurgia clinica ed operativa ricordo il *Contributo all'estirpazione del gozzo* (1884) — la *Chirurgia operativa delle vie bi-*

liari (1886) — la *Cura radicale dell'ernie col processo Bassini* (1890) — il *Contributo di Clinica operativa* (1891) e il *Contributo di Chirurgia delle vie biliari* (1891). In questi scritti non solo F. Colzi riferì una ricca casistica chirurgica dando prova della sua valentia come fortunato operatore; non solo illustrò i casi riferiti con sapienti considerazioni di patologia; ma seppe anche spesso elevarsi ad una concezione originale sui processi morbosi e sui metodi operativi. Mi limito a citare i suoi studi sulla cura radicale dell'ernia che contribuirono essenzialmente ai progressi del metodo Bassini; come pure i suoi studi sulla chirurgia delle vie biliari, nei quali espose un nuovo metodo operativo, la colecistoenterostomia, che ormai ha preso posto in tutti i Trattati classici di chirurgia.

Anche più importanti dei precedenti sono gli scritti del Colzi nel campo della patologia.

Nel 1884 in una serie di esperimenti sui cani (*sulla estirpazione della tiroide*) Egli dimostrò per il primo che la funzione delle glandole tiroide era di sottrarre dal sangue e di distruggere un prodotto di consumo dei tessuti, capace di determinare un'autointossicazione analoga all'uremia. Il Colzi incominciò queste ricerche sperimentali nel Laboratorio di Anatomia Patologica, ma non avendo quivi i comodi sufficienti per sperimentare sui cani, chiese ed ottenne ospitalità nel Laboratorio di Fisiologia, diretto dal Prof. L. Luciani.

Lo scritto sull'Osteomielite (1889) è in parte clinico, in parte sperimentale. Nella prima parte sono riferite le storie di 16 casi di osteomielite, che dal Colzi vennero studiati in modo completo dal lato clinico e batteriologico. Nella seconda parte Egli dimostrò per il primo che nei conigli molto giovani con l'iniezione degli stafilococchi aureo ed albo nelle vene si poteva, senza precedente lesione traumatica dell'osso, determinare un'osteomielite purulenta giustaepifisaria, analoga all'umana. La dimostrazione data dal Colzi è di un anno anteriore al lavoro del *Rodet* di Lione, il quale ripetè con esito uguale le stesse esperienze senza citare la pubblicazione italiana ed al quale si continua ad attribuire l'onore della scoperta.

Le ricerche sull'azione piogena del bacillo tifico (1891) furono dal Colzi intraprese in seguito al reperto batteriologico da lui avuto in alcuni casi di suppurazione nell'uomo. Egli riuscì a dimostrare che non solo nell'uomo, ma anche negli animali si potevano ottenere flogosi suppurative iniettando culture di bacilli del tifo. In tal guisa per la prima volta si diede la prova sperimentale della possibile azione piogena dei bacilli tifici, allora negata o messa in dubbio, oggi accettata senza contrasto.

Il lavoro sulle lesioni prodotte dal fungo raggiato (1902) è uno stu istologico accuratissimo sopra alcune lesioni delle glandole linfatiche p dotte dall'*actinomyces*. Da esso apparisce in modo evidente come il C sapesse trattare da maestro anche i più difficili problemi di citologia tologica.

Negli ultimi periodi della sua vita, il Colzi stava occupandosi di uno studio istologico e sperimentale sulle lesioni delle anse intestinali erniose e già aveva fatto incidere in alcune splendide tavole litografiche le alterazioni da Lui ritrovate. Gli amici sperano che gli appunti da Lui lasciati sull'argomento siano abbastanza completi da permettere la pubblicazione e così anche questa nuova opera varrà a documentare sempre più le eminenti qualità del Colzi come patologo.

* * *

Patologo valente, insuperabile operatore, intelligenza eletta, animo leale e cortese, F. Colzi fu maestro grande ed amato. Come limpido il pensiero, così Egli aveva limpida la parola e sotto la sua logica stringente le diagnosi più difficili divenivano a chi lo ascoltava chiare ed evidenti, mentre i problemi più intricati della patologia nuova e sperimentale, dell'anatomia patologica, della batteriologia venivano sintetizzati e volgarizzati in guisa da renderli accessibili a tutte le menti. Da Lui una numerosa schiera di Giovani e di Medici apprese l'arte di esaminare i malati, la scienza di riconoscere le malattie, l'abilità per curarle: dalle sue opere giornaliere una numerosa schiera di Giovani e di Medici apprese quali fossero i doveri del Chirurgo di fronte ai malati, di fronte ai colleghi, di fronte alla società. F. Colzi è passato nella vita conquistandosi i cuori di quanti lo avvicinavano, ed anche di quelli che lo conoscevano solo per nome.

Alla sua tomba nessuno potrà rinfacciare un torto ricevuto, nessuno potrà accusare la sua memoria di un atto che non fosse improntato alla più perfetta lealtà ed onestà: molti potranno e dovranno su quella tomba deporre il fiore della riconoscenza e dell'affetto.

Ed io che per oltre 30 anni gli fui amico e compagno, io che avevo per Lui affetto fraterno e riconoscenza incancellabile, depongo oggi quel mistico fiore sulla sua tomba a nome mio e di questa Accademia ed invoco gioia dall'urna a Lui che ha lasciato così larga eredità di affetti.

Principali pubblicazioni del Prof. F. Colzi.

Contributo all'estirpazione del gozzo (*Lo Sperimentale*, 1884).
Sulla estirpazione della tiroide (id.).
La Chirurgia operativa delle vie biliari (*Lo Sperimentale*, 1886),
Sull'etiologia dell'osteomielite acuta (*Lo Sperimentale*, 1890).
Sulle suppurazioni prodotte dal bacillo del tifo (id.).
Sulla cura radicale delle ernie col processo Bassini (Congresso di Chirurgia, 1890).
Contributo all'etiologia della strumite acuta suppurativa post typhum (*Lo Sperimentale*, 1891).

Contributo di Chirurgia delle vie biliari (Firenze, 1891).
Contributo di clinica operativa (id.).
Contributo allo studio delle anomalie di sbocco degli ureteri e all'innesto degli ureteri in vescica (*Lo Sperimentale*, 1895).
Sopra un caso di aneurisma arterio-venoso traumatico tra l'aorta ed il tronco venoso tracheocefalico sinistro (Atti della Società medica fisica, 1895).
Sopra un caso di resezione di tutta la porzione sottospinosa e di porzioni del collo della scapola sinistra per sarcoma globocellulare mielogeno telangectasico della scapola (Atti della Soc. med. fisica, 1899).
Sopra tre casi di stenosi pilorica da pilorite e peripilorite iperplastica curati con la gastroenterostomia (id.).
Sopra un caso di colicistectomia per calcolosi e idrope della cistifellea e stenosi cicatriziale del dutto cistico (id.).
Considerazioni sopra un caso di colecistotomia con sutura della cistifellea in secondo tempo per calcoli numerosissimi della cistifellea (id.).
Sopra un caso di colecistectomia: considerazioni operative e diagnostiche (id.).
Sopra un caso di esostosi voluminosa del mascellare superiore (id. 1899).
Sopra un caso di occlusione intestinale prodotta dai resti del dutto onfalo-mesenterico (id.).
Risultato dell'innesto degli ureteri nel retto in caso di atrofia della vescica (id.).
Sopra un caso raro di tumore dell'orbita (id. 1900).

Il Prof. Burci a nome proprio e della Clinica Chirurgica si associa ai sentimenti espressi dai precedenti oratori.

Il Segretario degli Atti
RADAELI.

Adunanza pubblica del dì 20 Maggio 1903.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente*.

Sono presenti i Soci: AZZURRINI, BADUEL, BANCHI, BANTI, BUFALINI, CACCIA, CELONI, CHIARUGI, FLORA, GIUNTOLI, LENZI, LIVINI, LUISADA, LUSTIG, MYA, OREFICI, PIERACCINI, RADAELI, SALAGHI, STORI.

Prof. Mya. — *Un nuovo caso di meningite cerebro-spinale da ba di Pfeiffer.*

Nel decorso anno l'O. ebbe occasione di osservare tre casi di i ningite purulenta da bacillo di Pfeiffer. Due di questi casi vennero

municati a quest' Accademia dall' assistente della Clinica pediatrica dott. Pacchioni: il 3° caso appartenente alla pratica privata del dott. Caccia, venne studiato batteriologicamente e sperimentalmente nell' Istituto pediatrico, e l' O. ebbe occasione di seguirlo consultivamente. I due casi della Clinica ebbero esito letale, e si ebbe la conferma anatomo-patologica: il caso del dott. Caccia dopo un lungo periodo morboso, ebbe esito in guarigione: in esso la diagnosi batteriologica si basò esclusivamente sull' esame del liquido cefalo-rachideo ottenuto con ripetute punture. L'O., unendo insieme i 8 casi, ne fece oggetto di considerazioni e conclusioni cliniche, che comunicò al XII Congresso di medicina interna. Recentemente ha potuto studiare un 4° caso, che, essendosi svolto in condizioni speciali, gli parve degno di essere comunicato a questa Accademia. D' altra parte i casi di meningite da bacillo di Pfeiffer sono sempre piuttosto rari. Sommando insieme i 12 casi raccolti da Ghon, i 8 della Clinica pediatrica fiorentina, ed un caso di Hecht recentemente descritto nel *Jahrbuch f. Kinderheilkunde*, ed anche ammettendo che qualche altro caso sia sfuggito nella ricerca bibliografica, la casistica di questa forma di meningite risulterebbe sempre piuttosto scarsa e meritevole quindi di essere arricchita. Ecco in succinto l' esposizione del nuovo caso.

Il bambino P. D. di un anno d'età, nativo di Firenze, venne dalla madre portato all' ambulatorio della Clinica il giorno 6 di maggio colla storia seguente. Il bambino è nato a termine di parto gemellare, essendo il 2° nato. Fu allattato dalla madre, molto irregolarmente e andò frequentemente soggetto a catarri gastro-enterici. Fu fin dalla nascita piuttosto pallido: e l'anemia si accrebbe dopo un attacco di varicella sofferto nel mese di aprile. Il giorno 19 aprile cadde dalla culla a terra battendo sul suolo colla regione parieto-occipitale destra; non ebbe lì per lì alcun accidente nervoso rilevabile dalla mamma molto attenta e premurosa; ma il giorno dopo si delineò sulla regione del cranio percossa, un tumore molle, pastoso, grosso quanto un uovo di tacchino. Neanche la formazione del cefalo-ematoma esterno fu accompagnato e seguito da manifestazioni nervose di qualche entità. Pur tuttavia la mamma lo portò alle nostre consultazioni, dove venne rilevato un esteso cefalo-ematoma esterno occupante la regione occipito-parietale destra, senza che l'esame permettesse di apprezzar l' esistenza di fratture del tavolato osseo. Il bambino era apiretico; non aveva alcun fenomeno nervoso e insieme alle note di un' oligoemia di grado medio, si notò un modico ingrossamento della milza, senza sintomi di rachitismo. Venne applicata una fasciatura compressiva al capo e si consigliò alla mamma di sorvegliare il bambino, riportandolo in caso di bisogno.

Il giorno 15 il bambino ritornava all'ambulatorio febbricitante, tossicoloso, e, insieme al cefalo-ematoma, diminuito sensibilmente di volume e un tantino più consistente, si constatarono i segni di un' infil-

trazione bronco-pneumonica alla base polmonare sinistra. Notisi che nel contempo la mamma aveva ritirato dalla balia l'altro gemello, che presentava precedentemente i sintomi di un catarro bronchiale grippale. Il bambino venne ammesso nella Clinica e quivi tenuto in osservazione. L'esame del sangue, oltre ad una notevole riduzione dell'emoglobina e delle emazie, diede una modica polinucleosi neutrofila (11,925 leucociti di cui 8586 polinucleati neutrofili), che noi ponemmo in rapporto con l'infiltrazione bronco-pneumonica. Le urine erano scevre di albumina e contenevano tracce di acetone e di urobilina. Il bambino ebbe in questi giorni febbre continua con massimi di 39°,2 e minimi di 38° C.

La sera del giorno 18, cioè 4 giorni dopo l'ammissione, e 29 giorni dopo il traumatismo al capo, cadde improvvisamente verso le ore 16 in collasso, per cui parve in imminente pericolo di vita. Riprese con qualche iniezione ipodermica di soluzioni di caffeina; ma venne poco dopo (alle ore 19) colpito da convulsioni cloniche localizzate ai muscoli mimici e degli arti di sinistra. Le convulsioni, mantenendo la medesima sede e gli stessi caratteri, durarono tutta la notte. Nella notte ebbe intercorrentemente del vomito. Verso le ore 10 del mattino seguente (19 maggio) le convulsioni si estesero agli arti del lato opposto; si ebbe deviazione oculo-cefalica prima a sinistra e poi a destra, esagerazione dei riflessi cutanei e profondi, dermografismo, ipertonia muscolare, fenomeni di Kernig e Babinski. In queste condizioni la diagnosi mi parve ovvia.

Data la coesistenza del cefalo-ematoma esterno, con una sopraggiunta infezione broncopolmonare, mi parve razionale ammettere che in un primo tempo il germe pneumonitogeno, penetrato in circolo, avesse infettata la sacca ematica pericranica, e di qui in secondo tempo attraverso le vie di comunicazioni sanguigne dirette fosse avvenuta una infezione delle leptomeningi. La comparsa dei primi fenomeni convulsivi alla metà sinistra indicava un'irritazione corticale a destra, cioè dalla parte cerebrale corrispondente al cefalo-ematoma e mi confermava nel mio presupposto diagnostico. Successivamente la meningite si era propagata a tutta la superficie del mielencefalo. Non potevo naturalmente fare una diagnosi etiologica: ma dato il genio epidemico dominante, la natura del focolaio broncopolmonare, e sino ad un certo punto l'età del bambino, non ero alieno dall'ammettere un'infezione da bacillo di Pfeiffer. Immediatamente, cioè nella mattina del 19, praticai la puntura lombare, la puntura del cefaloematoma e del focolaio broncopolmonare. Dal sacco meningeo fluì in copia un liquido fortemente torbido, che confermò immediatamente la diagnosi di meningite purulenta. Dal cefalo-ematoma si estrasse a stento del pus molto denso, vischioso, vale a dire di d[illegible] non recente. Colle goccie di sangue estratto, come pure col liquido [illegible]ningeo e col pus della sacca ematica si allestirono colture in agar, br[illegible] semplice, e con gli stessi mezzi insanguinati. L'esame estemporaneo l'essudato meningeo e del pus pericranico dimostrò la presenza in qu[illegible]

tità abbondante di un microrganismo avente in prevalenza la forma di un piccolo e corto bacillo, ma anche quella di diplococchi, di filamenti. Detto microrganismo non resistè alla decolorazione con il metodo di Gram. Crebbe unicamente nei mezzi contenenti sangue. Iniettando l'essudato meningeo dentro le vene e sotto cute a conigli, topolini e cavie non si ebbe la morte di verun animale, ma soltanto una temporanea sofferenza dei topolini iniettati nel cavo peritoneale. Morì invece nel termine di 30 ore e con fenomeni convulsivi un coniglio che era stato iniettato nella cavità rachidea.

Per tutti questi caratteri non esitai a qualificare il germe rinvenuto nell'essudato meningeo e nel pus pericranico come il bacillo di Pfeiffer o bacillo emofilo o bacillo dell'influenza, confermandone così il potere piogeno. Anche dal succo pneumonico ottenuto *intra vitam* si ottenne in coltura pura il bacillo di Pfeiffer. Da questi risultati batteriologici rimaneva confermata la mia diagnosi ed era così acquisito alla scienza un nuovo caso d'infezione da bacillo di Pfeiffer, in cui il germe penetrato in circolo da un focolaio broncopolmonare, aveva in primo tempo infettato una sacca ematica preesistente, dove la natura del liquido e le sue condizioni di ristagno offrivano un ottimo terreno di coltura. Dopo aver prodotto la suppurazione del cefalo-ematoma il germe penetrò per via sanguigna diretta nella cavità endocranica, producendovi una meningite cerebro-spinale con inizio all'emisfero destro, dalla parte cioè corrispondente alla regione traumatizzata un mese prima.

Il bambino morì la sera dello stesso giorno. L'autopsia dimostrò l'esistenza di una sacca marciosa nel pericranio della regione occipito-parietale destra, di una meningite cerebro-spinale fibrino-purulenta generalizzata ed aggiunse la presenza di una frattura lineare con perfetta adesione dei margini ossei. La dura madre era intatta.

Era quindi esclusa un'infezione diretta per il tragitto della frattura, perfettamente chiuso. Non esisteva trombosi delle vene cerebrali, nè dei seni.

Questo caso dimostra sempre più l'alto valore del bacillo di Pfeiffer come agente meningitogeno. L'O. è convinto che esso acquisterà un valore etiologico, se non pari, di poco inferiore a quello del meningococco di Weichselbaum e del pneumococco di Fraenkel, nella produzione della meningite cerebro-spinale.

Il prof. **G. Banti** crede che l'origine della meningite potrebbe interpretarsi anche in altro modo, ammettendo cioè che fosse di natura ematogena. I bacilli emofili, come per la via sanguigna avrebbero infettata sacca pericranica, così per la stessa via sarebbero giunti fino alle eningi, ove il traumatismo antecedente avrebbe creato condizioni favoevoli alla loro vegetazione. È confermato in questa ipotesi, considerando l'integrità delle vene emissarie, dei seni e della dura madre e 'al fatto che la meningite era diffusa.

Prof. Mya. Ha preferito l'interpretazione dell'infezione meningea secondaria all'infezione della sacca ematica e propagatasi per la via delle vene emissarie, perchè evidentemente il pus del cefaloematoma era di data molto anteriore alla meningite. D'altra parte i fenomeni meningei cominciarono esattamente nella regione corticale dell'emisfero destro sottostante al cefalo-ematoma.

Comprende l'importanza dell'osservazione mossagli dal collega prof. Banti; ma non ritiene in ogni caso obbligatoria la produzione di una trombosi lungo il tramite vasale percorso da un germe infettivo piogeno per passare dall'esterno all'interno del cranio. Rileva ancora che nel caso in questione, trattandosi di un germe speciale, come il bacillo di Pfeiffer, è ancora dubbio se non sia possibile una sua propagazione dall'esterno all'interno del cranio senza l'intermezzo di una trombosi.

Del resto anche l'interpretazione del prof. Banti può essere accolta e non muta potenzialmente il valore clinico e batteriologico della sua osservazione.

Prof. Banti. Osserva che le meningiti da propagazione per lesioni delle parti molli pericraniche sono quasi costantemente accompagnate da trombosi più o meno estese delle vene emissarie ed anche dei seni e ciò indipendentemente dalla natura dei batteri. D'altra parte il bacillo emofilo ha azione flogogena e piogena non dubbia e non si comprenderebbe perchè le vene dovessero sottrarsi a questa azione. L'essere cominciata la meningite in corrispondenza dell'emisfero destro non infirma la sua origine ematogena: il trauma aveva agito sull'emisfero di questo lato ed è perciò quivi che i batteri circolanti trovarono dapprima le condizioni favorevoli per attecchire. Anche se la suppurazione della sacca cranica era più antica della meningite non sembra argomento decisivo contro la sua ipotesi, poichè è comune che le infezioni ematogene multiple provenienti da un primitivo focolaio non avvengano contemporaneamente, ma in epoche successive.

Il Segretario degli Atti
RADAELI.

DOMENICO CESARE BARTOLINI, *Responsabile*

R. Istituto di Studi Superiori in Firenze.
Laboratorio di Anatomia patologica, diretto dal Prof. G. Banti.

RICERCHE BATTERIOLOGICHE

NELLA CONGIUNTIVITE CATARRALE ACUTA, NEL MORBILLO E NELL' INFLUENZA.

(CONTRIBUTO ALLO STUDIO DEI BACILLI EMOFILI). (1)

DOTT. CARLO GIARRÈ
Libero docente di Pediatria

DOTT. LUIGI PICCHI
1° Aiuto

Il *Kruse* nel classico trattato sui microrganismi, pubblicato sotto la direzione del *Flügge*, riunisce, col titolo di *Gruppo del bacillo dell' influenza* (Dritter Kapitel-Bacillen- XVIII *Gruppe des Influenzabacillus*) 8 tipi di bacilli, che hanno a comune i caratteri di essere molto piccoli, isolati non sporigeni, di non colorarsi col metodo del *Gram* e di esser difficili a coltivarsi; 3 di questi (*bacilli dell' influenza*, *della pseudo influenza* e della *congiuntivite acuta*) sono anche patogeni per l'uomo, mentre gli altri 5 (*b. cavernae minutissimus*, *b. salivae minutissimus*, *b. pseudo conjunctivitidis*, *b. äeris minutissimus* e *b. aureus minutissimus*), i quali come lo indicano i loro nomi, furono isolati dall'aria, dalla saliva, dalla secrezione lacrimale, e dal contenuto delle caverne tubercolari, sarebbero innocui per l'uomo, e l'ultimo soltanto patogeno per certi animali provocando setticemia nel topo e ascessi nel coniglio.

A stabilire però una distinzione netta e decisa fra i primi 3 e gli altri 5, oltre all'essere o no patogeni per l'uomo, vale an-

(1) Nel presente lavoro sul bacillo emofilo, le ricerche cliniche e quelle batteriologiche dirette ad isolare dai malati le diverse specie batteriche esistenti nei prodotti morbosi sono dovute specialmente al dott. C. Giarrè; le ricerche anatomo-patologiche, le batteriologiche sui cadaveri e lo studio biologico e sperimentale sul bacillo emofilo sono dovuti specialmente al dott. L. Picchi. Nessuno dei due Autori però ha fatta una parte esclusiva del loro, avendo ambedue, data l'estensione delle ricerche, lavorato tanto nel campo clinico che quello anatomo-patologico. Prof. G. Banti.

che un carattere biologico importante, poichè mentre nei primi è necessario per coltivarli usare terreni con emoglobina, gli altri si sviluppano anche in gelatina o su patate formando un pigmento giallastro, aureo o bruno a seconda delle specie. Per quanto non si possa in modo assoluto escludere che il *b. della congiuntivite acuta* e *quello dell'influenza* possano in circostanze speciali, come alcuni pochi osservatori riferiscono, coltivarsi anche in agar siero o altri terreni non contenenti emoglobina, pure dall'esame complessivo delle numerosissime ricerche fatte in molti paesi a tal riguardo, si può concludere che l'agar emoglobinico è il solo mezzo sicuro per ottenerne lo sviluppo, e quindi la denominazione di *bacilli emofili* ai primi tre del gruppo 18° di *Kruse* è la più razionale ed è quella che noi adottiamo.

Anzi, tanto a proposito della congiuntivite acuta quanto a quello dell'influenza e del morbillo, nel quale pei primi abbiamo fatto ricerche batteriologiche speciali rispetto a tal genere di microorganismi, noi piuttostochè parlare di bacillo di *Koch-Weeks*, di *Pfeiffer*, ecc., chiameremo sempre *bacillo emofilo* quello, che isolato dalle varie mucose in tali malattie, presenti i caratteri morfologici e biologici sopra accennati, poichè, come risulterà meglio dalla discussione che dovremo fare in questo lavoro, pare dimostrato che il *bacillo dell'influenza* e il *bacillo della pseudo influenza* sieno uno solo, e studi recentissimi tendono anzi a stabilire anche l'identità di quello della congiuntivite con quello dell'influenza.

Quanto al nome di *coccobacillo emofilo* proposto da autori Francesi, per indicare anche il polimorfismo del b. del *Pfeiffer* e di altri simili, noi non lo crediamo accettabile, poichè se è vero che spesso in preparati microscopici fatti da culture giovani si vedono individui isolati a forme più tozze da somigliare a piccolissimi cocchi o accoppiati in modo da sembrare sottili diplococchi, forti ingrandimenti permettono sempre di stabilire che in realtà si tratta di minuti bacilli o diplobacilli, e d'altronde l'ulteriore sviluppo non lascia alcun dubbio s forma nettamente bacillare. E però noi preferiamo usar nome generico di *bacilli emofili*, che mentre lascia impregi cata la questione della identità o della varietà dei tipi, rispo meglio alla classificazione delle specie.

Ma la batteriologia odierna non soltanto discute se si debba o no mantenere la distinzione fra i primi 3 bacilli del gruppo 18° di *Kruse;* essa ha sollevato anche una questione più importante per la patologia umana, quella cioè della specificità del bacillo di *Pfeiffer* come agente patogeno dell'influenza, specificità, che ammessa quasi universalmente dopo la scoperta del *Pfeiffer* e ancora accettata dai più, è oggi battuta in breccia da più parti, ed è appunto di questi argomenti di attualità che si occupa questo nostro lavoro, nel quale sono riferite per esteso e con nuovi dettagli quelle non brevi serie di ricerche, i cui risultati più interessanti furono già da noi, con comunicazioni preventive, esposti all'Accademia Medico-Fisica di Firenze e alla 1ª seduta della Sezione Toscana della Società di Pediatria.

I. — Congiuntivite catarrale acuta.

Fino dal giugno 1898 noi facemmo all'Accademia Medico-Fisica di Firenze una breve comunicazione riguardante uno studio clinico e batteriologico su di alcune forme di *congiuntivite* che, con molta frequenza, si osservavano fra i bambini accolti nello Spedale Anna Meyer. Dopo aver distinto una *congiuntivite subacuta* o *angolare*, della quale eravamo riusciti a coltivare l'agente patogeno conosciuto in oculistica col nome di diplobacillo di *Morax*, noi descrivemmo un'altra forma assai più frequente di *congiuntivite catarrale acuta* nella quale i preparati diretti del pus congiuntivale dimostravano numerosi bacilli sottilissimi, simili a quelli dell'influenza, che, per le cognizioni che si avevano allora sull'argomento, supponemmo poter essere i bacilli di *Koch-Weeks* senza che però fossimo riusciti a ottenerli in cultura. Ciò era dipeso dal fatto che fino ad allora, fidando nei risultati positivi ottenuti dal *Morax* col siero agar di *Wertheim* o coll'agar siero gonococcico, noi avevamo usato tali terreni nutritivi, i quali invece nei nostri casi riuscirono sempre inadatti allo sviluppo di questi bacilli.

Nell'inverno 1899-1900 si cominciò ad usare prima l'agar con sangue umano e poi l'agar con sangue di piccione, con

la modificazione che sarà descritta più tardi, e da allora in poi si ebbero sempre e con facilità le colonie caratteristiche del bacillo della congiuntivite acuta epidemica, e con successivi trapianti le culture pure del bacillo stesso. Stabilita così con uno studio batteriologico completo e anche colle prove sperimentali l'identità del microrganismo già da noi osservato nel pus congiuntivale, con quello detto di *Koch-Weeks*, pur seguitando a fare la diagnosi etiologica di ogni caso nuovo di congiuntivite anche mediante il rapido, ma sempre dimostrativo, esame diretto dalla secrezione congiuntivale, dovemmo limitare le coltivazioni a un numero ristretto di casi per esercitare la nostra attività in altro campo più vasto di studio, quale risulta appunto da questo lavoro.

Così in varie epoche, dal dicembre 1899 al febbraio 1903, si fecero le culture in agar con sangue in 20 casi di *congiuntivite catarrale acuta* e, come risulta dalla tavola I, fatta eccezione del caso 6, da cui si isolò il già descritto diplobacillo di *Morax* e del caso 20, in cui si trovarono soltanto il bacillo pseudo-difterico e il diplococco lanceolato, in tutti gli altri si ottenne un bacillo emofilo, di rado solo, spesso prevalente, ma accompagnato dagli ospiti abituali della congiuntiva umana, specialmente b. pseudo-difterico, stafilococco albo non virulento e anche diplococco [1].

Clinicamente i casi di congiuntivite da noi studiati batteriologicamente e nei quali, o coi preparati miscroscopici del muco pus o colle culture, si riconobbe il *b. emofilo* (casi che dal 1898 in poi sommano a più di 100) presentarono una sintomatologia molto svariata. Nel maggior numero di essi si notò dapprima in un occhio e ben presto anche nell'altro fotofobia, arrossamento e tumefazione delle mucose palpebrali con scarsa secrezione costituita da filamenti di fibrina, globuli di pus e cellule epiteliali degenerate e, quasi sempre, discreta iniezione della congiuntiva oculare; abbassando la palpebra inferiore specialmente nel periodo iniziale della malattia si trov

[1] Notiamo qui una volta per tutte, che la determinazione delle singole specie venne fatta con l'esame macroscopico e microscopico delle culture ed anche con ricerche sperimentali sugli animali, ogni qualvolta ciò sembrò necessario.

rono spesso sottili pseudomembrane fibrinose, il cui distacco faceva leggermente sanguinare la sottostante mucosa, il che confermerebbe l'opinione dell'*Hoffmann* che la congiuntivite epidemica nei primi stadi può essere una flogosi crupale. In genere la mucosa rimase sempre liscia e senza tumefazione follicolare, solo in 2 casi, come han già osservato *Hoffmann*, *Weichselbaum* e *Müller*, notammo la congiuntivite diventare cronica e accompagnarsi ad ipertrofia papillare con presenza dei bacilli caratteristici nel secreto, anche a lunga distanza dall'inizio. In genere però la cura praticata fece raggiungere la guarigione nello spazio da 1 a 2 settimane.

In altri casi, e furono i più rari, si notarono sintomi molto più gravi, avendosi, quasi come nell'oftalmia purulenta, tumefazione edematosa e arrossamento intenso della cute palpebrale, chemosi congiuntivale, secrezione purulenta abbondantissima e irritante, onde escoriazioni cutanee nelle guancie o nel naso, e il decorso si prolungò per molte settimane sebbene si raggiungesse sempre la guarigione senza conseguenze dannose per l'organo visivo. In 4 casi soltanto vi fu complicanza di pustole congiuntivali e in 1 anche la formazione di ulcera superficiale sull'orlo corneale.

Ma accanto a questi casi di media e massima intensità se n'ebbero anche parecchi in cui la congiuntivite fu leggerissima e di breve durata, con arrossamento poco pronunziato, abbondante lacrimazione e scarsa secrezione catarrale, ossia coi caratteri di quel leggiero catarro congiuntivale così facile a osservarsi nel morbillo e nell'influenza, e anche in simili casi, come resulta dai numeri 1-2-10-11 della Tav. I, le culture diedero discreto o abbondante sviluppo di bacillo emofilo non differenziabile morfologicamente da quello isolato dalle congiuntiviti più gravi.

Un'altra constatazione clinica che potemmo fare fu la frequenza di un leggiero movimento febbrile all'inizio della congiuntivite sia nella forma più grave che in quella più lieve.

Nello Spedale, dove si misurano regolarmente le temperature più volte al giorno a tutti i malati, si è spesso veduto che bambini da lungo tempo apirettici, nel primo secondo e anche fino al terzo giorno della congiuntivite presentarono un rialzo

termico variabile da 37.8 a 38, 38.2 e anche 39°, e la tavola citata ne dimostra alcuni esempi. Talvolta, ma non sempre, in simili casi febbrili altre mucose parteciparono al processo catarrale e si notò coriza con presenza del bacillo emofilo nella secrezione nasale (num. 1, 2, 14, 15, 17), laringite con o senza successiva bronchite (1, 2, 14), e perfino broncopolmonite (casi 1-2-3 della Tavola, ottobre-novembre 1900), casi questi che ci lasciarono in dubbio, come vedremo meglio in seguito, se non si trattasse di vere forme d'influenza con prevalente localizzazione iniziale sulla mucosa oculare.

Finalmente per l'osservazione non interrotta di quasi 6 anni possiamo confermare, quanto già avevamo accennato comunicando le nostre prime ricerche sulla congiuntivite acuta, che cioè esiste un evidente rapporto, almeno nello Spedale Meyer, fra la comparsa della congiuntivite stessa a forma epidemica e le epidemie di influenza e di morbillo, specialmente se queste attaccano bambini già per altre malattie degenti nello Spedale stesso.

Dal dicembre 1897 al giugno 1898 (epoca della nostra prima comunicazione sulle congiuntiviti) lo Spedale si componeva di un fabbricato centrale a 2 piani, e di due fabbricati laterali a 1 solo piano. In questi ultimi stavano le infermerie pei malati comuni di medicina e chirurgia, mentre in alcune stanze del 2° piano del corpo centrale si isolavano quelli affetti da malattie contagiose (morbillo, difterite, pertosse ecc.). Con questo isolamento assai imperfetto si ebbero per quei primi 18 mesi frequenti casi di morbillo endogeno nelle infermerie comuni, e, contemporaneamente, la congiuntivite vi regnò epidemica, in modo da non lasciar quasi libero nessun bambino che vi soggiornasse per qualche tempo.

Nell'agosto 1898, iniziatisi i lavori d'ingrandimento dello Spedale, furono sgombrati dapprima i fabbricati laterali, ed i soli bambini con malattie comuni mediche o chirurgiche si accolsero invece provvisoriamente nel 2° piano del fabbric centrale. Per un anno non si ebbero casi di morbillo e s qualche caso sporadico di congiuntivite acuta. Poi nel se tembre 1899, sempre per causa dei lavori murari, si vuo rono le stanze del fabbricato centrale e le infermerie medi

e chirurgica si stabilirono definitivamente in locali nuovi, cioè nel 2° piano dei due fabbricati laterali che erano stati rialzati di un piano, e quivi nel dicembre 1899 venne ammessa con laringite una bambina (vedi Tav. II, A e C, osserv. 1ª) cui si manifestò due giorni dopo l'ammissione il morbillo, ne seguì una serie di 16 casi di *morbillo endogeno* e un risveglio a forma epidemica di *congiuntivite acuta* (12 casi nel mese di dicembre e gennaio 1900), chè durò fino al maggio dello stesso anno. Finito il morbillo e disinfettate le infermerie, si continuò a non ammettere casi di malattie contagiose finchè nel maggio 1901 fu inaugurato lo Spedale ingrandito e arricchito di padiglioni per l'isolamento, costruiti a distanza dalle infermerie comuni e con tutte le regole igieniche per assicurare l'isolamento efficace degli affetti da malattie contagiose. Malgrado ciò, mentre nel periodo che va dal maggio 1900 al novembre 1901 si ebbero rarissimi casi di congiuntivite acuta, nel novembre 1901 cominciò in Firenze quella epidemia di morbillo, che fra interni e esterni portò il numero degli ammessi al padiglione d'isolamento a più di 200, e di nuovo si ebbero *casi frequenti di congiuntivite* nelle infermerie dello Spedale, con sosta completa dal maggio al novembre 1902. Credevamo di esser per sempre liberati da questo contagio interno, quando col sopraggiungere della ultima epidemia d'*influenza*, si ripetè un fatto identico ai precedenti nella sala del turno medico diretta dal Dott. *Giarrè;* quivi il 2° caso d'*influenza* fu accertato il 4 novembre 1902 e se n'ebbero 11 da tal giorno al 12 dicembre 1902 e il 1° caso di congiuntivite acuta si manifestò nel turno il 2 novembre, il 2° il 18 novembre, il 3° il 24 novembre e il 4° il 27 novembre. Furono però casi più leggieri di quelli delle grandi epidemie coincidenti col morbillo e in tutti, o coll'esame diretto della secrezione congiuntivale, o colle colture in agar sangue, si potè dimostrare la presenza del bacillo emofilo. Anche in alcuni casi esterni di congiuntivite catarrale, che si svolsero in membri di famiglie, i cui componenti erano stati attaccati dall'*influenza*, si accertò la esistenza dello stesso bacillo nella secrezione congiuntivale. Esiste dunque un nesso batteriologico abbastanza evidente fra il *morbillo*, l'*influenza* e la *congiuntivite catarrale acuta*, e

non può far maraviglia che questa assuma un carattere epidemico più spiccato e una sintomatologia clinica più grave negli Spedali infantili, specialmente quando, come in passato allo Spedale Meyer, le condizioni igieniche non sono buone, essendo nota l'azione che esercita l'agglomeramento di molti individui, specialmente ammalati, su altri microrganismi patogeni (diplococco, streptococco, stafilococchi ecc.) nel senso di esaltarne la virulenza e di favorirne la diffusione. E infatti la *congiuntivite catarrale epidemica*, oltrechè in Egitto dove regna endemica, è stata anche fuori di Firenze in generale osservata in ambienti dove vivono agglomerate molte persone, come in fabbriche (*Weichselbaum* e *Müller*), in scuole (*Weeks*), in caserme (*Kamen*) e in padiglioni di spedali infantili (*Wilbrandt*, *Sänger* e *Staelin*).

Tutto ciò abbiamo creduto interessante riferire perchè viene in appoggio di alcune recentissime vedute sul bacillo di *Koch-Weeks*.

Finora si era sempre considerato questo microorganismo essere una specie distinta dal bacillo di *Pfeiffer*, ma oggi i suoi caratteri morfologici e biologici si confondono talmente con quelli di questo, che non si può ammettere la sua individualità batteriologica come dimostrata. I primi, che hanno studiato il bacillo di *Koch-Weeks* (e fra questi citiamo *Kartulis*, *Weeks*, *Wilbrandt*, *Saenger*, *Staelin*, *Morax* e *Beach*), pure ammettendo che esso si sviluppi meglio in agar con sangue, sarebbero riusciti a isolarlo e poi trapiantarlo per molte generazioni anche sul siero agar di *Wertheim* e sul siero gonococcico di *Wassermann*. Più recentemente *Weichselbaum* e *Müller* invece avrebbero avuto scarsi resultati coll' agar con sangue di piccione, e riferiscono che il bacillo si sviluppa a preferenza in agar con siero di sangue umano e meglio in presenza di saprofiti specialmente dello stafilococco, e *Hoffmann* avrebbe addirittura avuto resultati negativi con agar con sangue umano e buone culture invece col terreno di *Wassermann* (agar co siero di maiale e nutrose). Il *Müller* anzi, che nel tracoma deg arabi ha frequentemente isolato un bacillo simile a quello di *Koch-Weeks*, ha creduto poterne fare un' altra specie distint perchè il bacillo dei tracomatosi cresce meglio in agar co

sangue di piccione che in agar siero, e perchè in culture giovani sarebbe rappresentato da individui isolati, più brevi e più tozzi del bacillo di *Koch-Weeks* e senza la produzione di lunghi filamenti proprii di questo, onde il bacillo di *Müller* somiglierebbe più a quello dell' *influenza*. Ma questi caratteri differenziali (maggior sottigliezza e lunghezza di bacilli, loro sviluppo a preferenza in agar con siero piuttostochè con emoglobina ecc.) non si possono più accettare in modo assoluto, poichè da un lato il *Kamen*, che in un reggimento della guarnigione di Czernowitz ha studiato 150 casi di congiuntivite epidemica, ha invece ottenuto le migliori culture e trapianti per molte generazioni coll' agar con sangue di piccione e *Qur Nedden* ha veduto lunghi filamenti prodursi presto anche nelle culture del bacillo di *Müller*, e dall'altro pel bacillo d'*influenza* si è dimostrato che non solo può anche crescere in terreno senza emoglobina, ma che anche lo sviluppo delle sue colonie è facilitato dalla simbiosi di altri microrganismi e in specie dagli stafilococchi, e che il suo polimorfismo è tale da aversi ora individui isolati tozzi e brevi, ora lunghi e sottili con produzione di filamenti anche nelle culture giovani, precisamente come pel bacillo di *Koch-Weeks*. E però i due ultimi autori, che s'occupano dell' argomento, *Rymowitsch* in Russia e *Jundell* in Scandinavia, finiscono per concludere per la completa identità fra il bacillo di *Koch-Weeks* e quello di *Pfeiffer*.

Le nostre ricerche batteriologiche sono in sostegno di questa tesi, poichè, come risulterà anche meglio dal Capitolo V dove saranno dettagliatamente descritti i caratteri morfologici e biologici dei vari *bacilli emofili* da noi studiati, noi abbiamo appunto anche per i bacilli isolati nei casi di congiuntivite, trovato che il miglior terreno di cultura (per noi anzi l'unico) è l'agar con sangue, e che quello col sangue di piccione corrisponde anche meglio dell'agar con sangue umano, perchè si possono col primo fare trapianti per lunghissimo tempo, che la simbiosi di saprofiti e specialmente di stafilococchi facilita tanto lo sviluppo dei bacilli della congiuntivite come di quelli isolati dalle muccose dei morbillosi o dei malati d'influenza, che infine esaminando le culture di 24 ore, in alcuni casi di

congiuntivite si hanno bacilli brevi, tozzi, isolati o disposti a due e senza catene o filamenti, mentre in altri si hanno subito bacilli più sottili, lunghi, con filamenti intrecciati diritti o ricurvi.

Sperimentalmente il bacillo della congiuntivite ci ha dato risultati quasi uguali a quello di *Pfeiffer*, ha dimostrato cioè di possedere un'azione patogena molto limitata, e solo per alcuni dei comuni animali da laboratorio, come meglio illustreremo in seguito.

A tutti questi criteri batteriologici noi abbiamo poi aggiunto qualche argomento clinico e, sopratutto, la constatazione di un rapporto evidente epidemiologico fra la *congiuntivite catarrale acuta*, l'*influenza* e il *morbillo*, che coi bacilli emofili, secondo le nostre osservazioni, ha rapporti altrettanto stretti quanto l'influenza, per cui concludiamo che l'opinione di *Rymowitsch* e *Jundell* sembra oggi la più accettabile, cioè che il *bacillo emofilo* della congiuntivite è probabilmente lo stesso di quello che, con tanta frequenza, si trova sulle mucose dei malati di morbillo e d'influenza, e che per ragioni ancora oscure, localizza la sua azione patogena sulla sola mucosa congiuntivale.

Tavola I.

Batteriologia della Congiuntivite catarrale acuta.

1. *Lionelli Lionello*, di anni 4 e mezzo. Ammesso il 30 novembre 1899 per empiema. Operato e apirettico fino al 26 novembre, in tale epoca ricomincia a febbricitare, ha coriza, tosse secca, arrossamento faringeo e leggiera congiuntivite catarrale.	31 dicembre 1899. Cultura in agar con sangue umano di piccolo straccetto muccoso tolto al cul di sacco congiuntivale destro.	*Stafilococco albo, pseudo-difterico* e molte colonie di *bacillo emofilo*.
2. *Caldini M.*, di anni 2. Ammesso il 30 dicembre 1899 per rachitismo e tosse. Ha leggera febbre (38° 2), tosse secca, laringea, coriza e lacrimazione con arrossamento congiuntivale.	30 dicembre 1899. Cultura di un'ansa di secrezione lacrimale in agar con sangue umano.	*Stafilococco albo, pseudo-difterico* e alcune colonie di *bacil emofilo*.

3. *Cratagli B.*, di anni 1 e mezzo. Ammesso il 12 febbraio 1900 per broncopolmonite. Congiuntivite catarrale acuta molto grave contratta nello Spedale.	3 marzo 1900. Cultura di ansa di pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Bacillo emofilo* e *bacillo pseudo-difterico.*
4. *Ammannati C.*, di anni 3. Ammesso il 3 aprile 1900 per enterite. Contrasse congiuntivite grave il 19 maggio 1900.	21 maggio 1900. Cultura con pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Molte colonie di *bacillo pseudo-difterico* e alcune di *bacillo emofilo.*
5. *Baccini G.*, di mesi 18. Ammesso il 13 maggio 1900 per bronchite. Cominciò la congiuntivite acuta con abbondantissima secrezione il 20 maggio 1900.	22 maggio 1900. Cultura con pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Qualche colonia di *stafilococco* e *pseudo-difterico* e molte di *bacillo emofilo.*
6. *Bieni Pietro*, di anni 4. Rachitismo con congiuntivite catarrale lieve contratta nello Spedale. Ammesso il 24 ottobre 1901.	30 novembre 1901. Cultura con mucco congiuntivale in 3 tubi di agar con sangue di piccione.	*Diplococco, pseudo-difterico* e parecchie colonie di *diplo-bacillo di Morax.*
7. *Brunelli Bruno*, di mesi 18. Enterite. Ammesso il 4 novembre 1901 per atrepsia. Congiuntivite catarrale acuta mucopurulenta contratta nello Spedale.	30 novembre 1901. Cultura con pus congiuntivale in 2 tubi di agar con sangue di piccione.	Cultura pura di *bacillo emofilo.*
8. *Cencetti Maria*, di anni 8. Ammessa il 30 novembre 1901 per anemia. Leggiera congiuntivite catarrale contratta nello Spedale.	15 dicembre 1901. Cultura con mucco congiuntivale in 2 tubi di agar con sangue di piccione.	Molte colonie di *cocco cereo*, poche di *pseudo-difterico* e 4 o 5 di *bacillo emofilo.*
9. *Callaioli Giuseppe*, di mesi 20 Ammesso il 3 dicembre 1901 per empiema. Congiuntivite acuta discreta contratta nello Spedale. (Vedi tavola n. 13).	15 dicembre 1901. Cultura con pus congiuntivale in 2 tubi di agar con sangue di piccione.	Varie colonie di *pseudo-difterico* miste a poche di *bacillo emofilo.*
10. *Maffi G.*, di anni 13. Esterno. Congiuntivite catarrale lieve (esterna).	18 dicembre 1901. Cultura con mucco congiuntivale in un tubo di agar con sangue di piccione.	Sviluppo unico di 7 colonie tipiche di *bacillo emofilo.*
11. *Vinattieri Serafino*, di mesi 13. Ammesso il 21 dicembre per meningite cerebrospinale. Congiuntivite catarrale lieve (esterna).	21 dicembre 1901. Cultura con catarro congiuntivale in agar solito, fatta al momento dell'ammissione.	*Diplo-streptococco, pseudo-difterico* e qualche colonia di *bacillo emofilo.*
12. *Cappelli Matilde*, di mesi 18. Ammessa il 4 novembre 1901 per enterite. Contrae nello Spedale congiuntivite catarrale.	31 dicembre 1901. Cultura con pus della congiuntiva in agar solito.	Si sviluppa soltanto il *bacillo emofilo.*

13. *Rossini Margherita*, di anni 2. Ammessa il 16 novembre 1901 per tubercolosi polmonare. Congiuntivite catarrale contratta nello Spedale.	31 dicembre 1901. Cultura con pus per disseminazione in agar con sangue di piccione.	Sviluppo unico del *bacillo emofilo*.
14. *Giarrè M.*, di mesi 7. Esterno. Congiuntivite catarrale lieve con coriza e catarro bronchiale.	3 gennaio 1902. Innesto di straccetto muccoso del cul di sacco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Numerose colonie di *bacillo emofilo*, 2 o 3 di *stafilococco albo* e poche di *pseudo-difterico*.
15. *Scarpa G.*, di mesi 11. Ammesso il 24 settembre 1901 per enterite. Congiuntivite mucopurulenta grave contratta nello Spedale. (Vedi n. 29, tav. IV A). La congiuntivite è seguita da coriza, febbre e tosse a timbro laringeo senza eruzione.	28 genn. e 2 febbraio 1902. Cultura con pus congiuntivale in varii tubi di agar con sangue di piccione.	In alcuni tubi si sviluppa puro il *bacillo emofilo*, in altri misto a qualche colonia di *pseudo-difterico*.
16. *Pecchioli Adele*, di anni 3. Ammessa il 29 gennaio 1902 per rachitismo. Congiuntivite catarrale lieve contratta nello Spedale.	3 febbraio 1902. Solita cultura in agar sangue.	Poche colonie di *stafilococco albo*, moltissime di *bacillo emofilo*.
17. *Giarrè R.*, di anni 3. Esterna. Ha leggiera febbre, tosse a timbro laringeo e catarro naso oculare.	8 aprile 1902. Da straccio muccoso della congiuntiva cultura in agar sangue.	Molte colonie di *pseudo-difterico*, 2 o 3 di *diplococco* e 3 colonie di *bacillo emofilo*.
18. *Fellini G.*, di mesi 18. Ammessa il 18 settembre 1902 per rachitismo e poi broncopolmonite. Congiuntivite acuta assai intensa contratta nello Spedale.	25 novembre 1902. Cultura del pus congiuntivale in 2 tubi di agar con sangue di piccione.	Sviluppo abbondantissimo di colonie di *bacillo emofilo* con 2 o 3 piccole colonie di *pseudo-difterico*.
19. *Rettori R.*, di anni 3 e mezzo. Ammesso il 23 ottobre 1902 per rachitismo. Compare congiuntivite acuta grave il 24 novembre detto.	24 novembre 1902. Cultura del pus in solito agar sangue.	Varie colonie di *bacillo emofilo* miste ad alcune di *pseudo-difterico*, *diplococco* e *stafilococco*.
20. *Dauphinè A.*, di anni 3 e mezzo. Esterna. Congiuntivite catarrale lieve.	23 febbraio 1903. Cultura con mucco congiuntivale in agar sangue.	Si sviluppano varie colonie di *pseudo-difterico* con qualcuna di *diplococco*.

II. — Morbillo.

Come abbiamo già accennato nel precedente capitolo, il fatto che ci spinse a iniziare speciali ricerche batteriologiche in bambini morbillosi fu l'evidente rapporto, che ci parve esistere, fra la *congiuntivite epidemica acuta* e il *morbillo*.

Nell'inverno e nella primavera del 1898, insieme a molti casi di morbillo endogeno, avevamo osservato una vera epidemia interna di congiuntivite; l'estate e l'autunno del 1898 e quasi tutto il 1899 per circostanze già accennate, erano nello Spedale trascorsi senza casi di morbillo e con qualche caso sporadico di congiuntivite, finchè nell'inverno 1899-1900, essendosi ripetuta una epidemia di morbillo endogeno nella sezione medica destinata alle malattie comuni, si vide d'un tratto la congiuntivite acuta assumere una diffusione e una gravezza pari, se non superiore, a quella di due anni prima.

Di fronte a questo modo di comportarsi dell'infezione oculare in rapporto al morbillo, ci sembrò logico ricercare se per avventura non vi fosse fra le due malattie anche un nesso batteriologico nel senso che l'agente patogeno ancor sconosciuto del morbillo, potesse in date circostanze, per esempio in individui refrattari o già immunizzati, spiegare un'azione puramente locale sulla congiuntiva, supposizione del resto già da tempo emessa anche da un distinto oculista, il *Galezowski*, il quale (*Revue des maladies de l'enfance*, 1888) aveva appunto descritta una forma di congiuntivite o cherato-congiuntivite dovuta, secondo lui, al germe morbilloso, capace di comparire da 15 a 20 giorni prima dell'eruzione, o anche di rappresentare la sola manifestazione della malattia in soggetti già precedentemente attaccati dal morbillo.

Anche le numerose ricerche che fino dall'inverno 1897-1898 avevamo iniziate con terreni di culture svariati ma senza emoglobina, quali brodo, agar semplice e glicerinato, agar-siero, agar siero con nutrose, siero umano, di maiale e di

bove, ecc., tanto sulla secrezione congiuntivale di bambini con semplice congiuntivite acuta, quanto su quella di bambini con morbillo, ci incoraggiavano a proseguire, poichè, sebbene non ci avessero dimostrato alcun microrganismo speciale, pure più volte in tale periodo ci era accaduto di vedere, che i vari mezzi adoperati, sia nell'un caso che nell'altro, restavano sterili, come se la flora batterica abituale della congiuntiva in ambedue i casi scomparisse per dar luogo allo sviluppo unico di qualche forma micotica non coltivabile nei terreni usati. Appena nel 1899 cominciammo a servirci dell'agar emoglobinico, e anche meglio in seguito quando si usò il sangue di piccione conservato in brodo, si ebbe la spiegazione del fatto, poichè, tanto dalla congiuntivite acuta come dalla congiuntiva dei morbillosi, si sviluppò quasi sempre in prevalenza su altri batteri e talvolta in cultura pura un *bacillo emofilo* identico pei caratteri morfologici e biologici. Allora dalla congiuntiva si passò tosto a studiare la muccosa bronchiale, poi quella nasale e infine anche qualche sierosa di individui affetti da morbillo e si ebbero i risultati che esposti con maggiori dettagli nella Tav. II, e già in parte comunicati all'Accademia Medico-Fisica di Firenze, brevemente qui riassumeremo.

Deve però esser rilevato, che lo studio della 1ª epidemia morbillosa (dicembre 1899-maggio 1900) si fece pei malati delle sale d'isolamento o delle infermerie dello spedale Meyer, com'erano in origine, e cioè nel turno affidato alle cure del dottor *Giarrè*. Invece per quello della 2ª epidemia (dicembre 1901-maggio 1902) le ricerche in vita sulla muccosa oculare e nasale si fecero nel nuovo padiglione d'isolamento e ciò per gentile concessione del Direttore della Clinica professore *Mya*, cui sentiamo il dovere di ripetere qui sentiti ringraziamenti, mentre lo studio batteriologico delle broncopolmoniti, pleuriti, pericarditi, ecc., post-morbillose, dovemmo limitarci a farlo *post mortem* col materiale del laboratorio di Anatomia patologica. Complessivamente poi si esaminar[illegible] malati delle vecchie sale di separazione, malati del nuovo [illegible]diglione d'isolamento, bambini nei quali il morbillo si [illegible] iniziato e si svolgeva in altri spedali, come quello di O.

tello e di S. Maria Nuova, e infine ogni qualvolta fu possibile, anche morbillosi esterni, ossia della clientela privata, e devesi aggiungere che mentre l'epidemia 1899-1900 coincise con frequenti casi d'influenza, osservati in città e allo Spedale, il biennio 1901-1902 fino al novembre 1902 trascorse senza che d'influenza epidemica si potesse ammettere la coesistenza, talchè l'epidemia di morbillo dell'inverno 1901-1902 e della primavera 1902, si prestò molto più favorevolmente della prima allo studio del bacillo emofilo nei morbillosi.

* * *

1° *Batteriologia della congiuntiva dei morbillosi.* — Colla tecnica indicata per la congiuntivite acuta furono studiati in tutto 65 casi, di cui 28 nell'epidemia 1899-1900, 36 nell'epidemia 1901-1902, e 1 nel febbraio 1903.

Clinicamente essi rappresentano tutte le forme di affezione della congiuntiva, che si possono verificare nel morbillo, dal semplice arrossamento con ipersecrezione lacrimale del periodo prodromico, al lieve catarro congiuntivale così frequente nel periodo eruttivo, fino alla vera congiuntivite catarrale acuta, che si osserva in alcuni casi e che si suole considerare come dovuta a una infezione secondaria, e però, anche rapporto al tempo in cui fu fatto l'esame batteriologico, si trovano nella nostra statistica esempi di morbillo scelti e studiati nell'incubazione, nei prodromi, nell'acme eruttivo e anche quando l'esantema era in via di decrescenza o completamente scomparso.

Complessivamente si ebbe in 49 casi, cioè in 83 % risultato positivo ossia reperto del *bacillo emofilo*, qualche volta puro, per lo più unito a altri batteri che possono vivere come saprofiti sulla congiuntiva normale, quali il b. pseudodifterico, uno stafilococco albo, il diplococco, il diplostreptococco delle muccose e altri non determinati ma assai più rari. Di tutti questi però il più frequente nella congiuntiva dei morbillosi fu il *b. emofilo* e si potè constatare che spesso le sue colonie erano numerosissime in confronto a quelle degli altri,

talvolta uniche o soltanto accompagnate da qualche rara ed isolata colonia di b. pseudodifterico o di stafilococco (osserv. 8, 9, 13, 19, 22, 32, 36, 40, 57, 61, 62), che esso si sviluppò altrettanto bene dalla secrezione lacrimale semplice, quanto dal pus della congiuntivite acuta, e infine che in alcuni casi di morbillo endogeno, in cui si poterono iniziare e ripetere gli esami durante l'incubazione e i prodromi, lo stesso b. emofilo si isolò costantemente della secrezione congiuntivale del periodo prodromico (osserv. 23, 25, 26, 37, 56, 58, 61 e 62) e anche da 7 a 10 giorni avanti che comparissero le prime papule morbillose (osserv. 57, 59, 63), mentre in alcuni di questi casi ricerche fatte precedentemente, cioè prima che fossero esposti al contagio, avevano escluso la presenza del b. emofilo dalla muccosa congiuntivale (osserv. 58 e 59).

Invece dei 16 casi, in cui si ebbe reperto negativo, soli 2 (osserv. 43 e 52) erano nel periodo iniziale del morbillo, tutti gli altri nell'acme eruttivo o nel principio della defervescenza.

Finalmente giova far notare che dei 65 casi studiati, 12 soltanto erano di *morbillo endogeno*, cioè contratto dentro lo spedale Meyer, gli altri 53 esterni, e di questi 45 furono curati nelle stanze o nel padiglione d'isolamento, ma si ebbe in quasi tutti l'avvertenza di fare l'esame batteriologico della secrezione oculare proprio al momento dell'ammissione o poco dopo; 8 infine (con 7 risultati positivi e 1 negativo) furono esaminati in altro Spedale, in altre città o nella clientela privata, e quindi siamo autorizzati ad escludere che la tanto frequente presenza del b. emofilo nella congiuntiva dei morbillosi possa dipendere da un contagio interno, come, senza le cautele adottate nelle ricerche, si sarebbe potuto obiettare, specialmente per la coesistenza nello Spedale Meyer di casi di congiuntivite catarrale acuta.

* * *

2. *Batteriologia della secrezione nasale.* — La secrezione r sale si raccolse o direttamente coll'ansa o, più spesso, c piccoli batuffoli di cotone idrofilo sterilizzati introdotti pr

fondamente dentro le narici; sia in un caso che nell'altro il muco nasale si lavò più volte in brodo, e con qualche goccia dell'ultimo brodo si fecero le disseminazioni in agar sangue. Si studiarono in tutto 21 casi di morbillo nella 2ª epidemia (1901-1902) cioè proprio in quella, in cui era più improbabile ammettere la coesistenza dell'influenza, come avremo poi occasione di far meglio rilevare. Di questi 3 erano endogeni, 18 provenienti dalla città, e si scelsero, come risulta dalla Tav. II, quasi tutti bambini nei quali contemporaneamente erasi esaminata la secrezione congiuntivale, e, per ciò che riguarda la fase del morbillo, in condizioni analoghe a quelle già indicate per le ricerche sulla congiuntiva. Si ebbero 17 risultati positivi, pari a 80 %, e si notò altresì, nel maggior numero delle culture, un così rigoglioso sviluppo delle colonie di *b. emofilo* da superare di molto quello degli altri microorganismi esistenti nella secrezione nasale, fra i quali classificammo soltanto alcuni (b. pseudodifterico, diplococco, stafilococco albo e aureo). In un solo caso (osserv. 9) si ottenne il *b. emofilo* in cultura pura, ma in molti altri (osserv. 3, 4, 5, 15, 16, 17, 18, 19, 20) si ebbero tubi di agar sangue quasi esclusivamente occupati da colonie di *b. emofilo* con un numero limitatissimo di colonie di altri batteri, specialmente *stafilococchi* e *diplococco*. Meritano speciale menzione i casi 19, 20, 21 nei quali il *b. emofilo* fu constatato nella secrezione nasale nel periodo prodromico, cioè da 1 a 3 giorni prima che comparissero le prime papule morbillose.

* * *

3. *Batteriologia della secrezione bronchiale e dell' essudato polmonare.* — La secrezione bronchiale si esaminò in vita in 6 casi mediante l'aspirazione diretta, fatta con siringa *Tursini*, da quelle parti del torace, in cui l'esame obiettivo dimostrava l'esistenza di un processo infiammatorio dei bronchi o dei polmoni, e quando la località indicata era tale da assicurare che una puntura esplorativa con sottile ago sarebbe riuscita innocua. Coll'aspirazione si estrasse per lo più del sangue finamente aereato, talvolta misto a un poco di catarro, e di esso si

fecero le solite seminagioni in agar con sangue umano o di piccione. Si ebbero 5 risultati positivi con tale metodo, e 1 negativo (osserv. 7) nel quale si sviluppò il solo *diplococco lanceolato*. Negli altri 5 invece (osserv. 2, 4, 5, 8, 9) si ebbe sempre lo sviluppo del *b. emofilo*, 3 volte in cultura pura, 1 volta associato al *diplococco* e 1 allo *stafilococco albo*. Deve in oltre notarsi che questi esami con aspirazione diretta dall' apparato respiratorio, furono tutti eseguiti dal 2° al 4° giorno del periodo eruttivo e in casi in cui vi era una semplice bronchite o una lieve broncopolmonite.

Altri 16 casi di *broncopolmonite post-morbillosa* furono invece studiati all' autopsia, procurando di raschiare coll' ansa il pus o il catarro da bronchi di medio e piccolo calibrio e più di rado prendendo il materiale d' innesto da focolai di epatizzazione polmonare (osserv. 1 e 12); di questi diedero risultato positivo 15 casi e in uno (osserv. 19) si ebbe il *b. emofilo* in cultura pura, mentre negli altri si trovò associazione coi comuni agenti pneumonitogeni, *diplococco lanceolato* il più spesso, meno frequentemente *stafilococco aureo* e *albo* e *streptococco piogeno*.

Complessivamente si trovò quindi il *b. emofilo* in 20 casi su 22, ossia nella proporzione del 91 %.

* * *

4. *Ricerche batteriologiche in alcune complicanze del morbillo.* — L' epidemia del 1902, che fu più grave delle precedenti non solo numericamente, perchè i malati accolti in Clinica superarono i 200, ma anche per le successioni o concomitanze morbose, ci diede l' opportunità di fare qualche studio speciale su di esse e specialmente sulle polisierositi fibrinopurulente. Fu ricercato il bacillo emofilo in 5 casi di *pleurite sierofibrinosa* o *purulenta* con 5 risultati positivi (osserv. 19, 20, 22, 23, 25), 2 dei quali con reperto del bacillo stesso in cultura purà, in 2 casi di *pericardite sierofibrinosa* con 1 resultato positivo e 1 negativo (osserv. 19 e 22), in 1 caso di *ascessi multipli polmonari* (osserv. 2[illegible] con risultato positivo e in 1 caso di *meningite purulenta* pur con resultato positivo e sviluppo del bacillo emofilo in cultu pura (osserv. 25).

Notevole il fatto che su alcuni di questi casi furono fatte in vita dal dott. *Pacchioni*, assistente alla Clinica Pediatrica, ricerche analoghe alle nostre con dimostrazione del bacillo emofilo nel pus pleurale estratto colla puntura e nel liquido cefalorachideo ottenuto colla puntura lombare, nel caso di meningite purulenta.

Anche il dott. *Pacchioni* nelle sue esperienze isolò il bacillo in cultura pura 2 volte dal pus pleurale e 1 volta dal pus meningeo. Queste nostre ricerche furono già comunicate all' Accademia Medico-Fisica Fiorentina nella seduta del 20 maggio 1902 e quivi ampiamente discusse; esse dimostrano che successioni morbose del morbillo, di natura purulenta, possono essere provocate e mantenute, anche per lungo tempo dopo l' esantema, dal bacillo emofilo e indicano una via da seguirsi in futuro nell'esame batteriologico di simili complicanze.

* * *

5. *Esame batteriologico del sangue dei morbillosi.* — Anche il sangue fu sottoposto a esami batteriologici eseguiti, in una 1ª serie (7 casi) in vita raccogliendo nel periodo massimo dell'esantema il sangue direttamente da una vena del pugno o della piega del braccio con siringa *Tursini*, e in una 2ª serie (9 casi) *post mortem* aspirandolo con pipetta sterilizzata dal ventricolo sinistro di bambini morti per broncopolmonite post-morbillosa. Il sangue estratto fu nella maggior parte dei casi direttamente innestato in tubi di brodo e agar semplice e agar con sangue di piccione; 1 volta fu mescolato a brodo e tenuto nel termostato 24 ore prima di trapiantarlo in agar emoglobinico; 2 volte fu anche direttamente innestato sottocute o nella vena auricolare del coniglio. Solo col 1° metodo si ebbe qualche risultato positivo, cioè complessivamente in 3 casi (osserv. 2, 11, 16) si sviluppò il *bacillo emofilo* dal sangue raccolto *post mortem* dal ventricolo sinistro. Nei 7 casi studiati in vita le culture rimasero tutte sterili, nei 9 studiati *post mortem* si ebbe 5 volte il *diplococco lanceolato*, 1 volta lo *streptococco piogeno*, 1 volta lo *stafilococco albo* e 3 volte, come fu detto, il *bacillo emofilo*

sempre però associato a uno dei precedenti e cioè 2 volte al *diplococco* e 1 volta allo *stafilococco*. Il dott. *Pacchioni* nell'occasione già citata comunicò di aver trovato il bacillo emofilo 5 volte, 1 delle quali in cultura pura, nel sangue del cuore raccolto poche ore dopo la morte. Sarebbe interessante, il che per ora non abbiamo potuto fare, eseguire ricerche batteriologiche del sangue dei morbillosi nel periodo d'incubazione e nel periodo prodromico, e ripetere le culture anche col metodo *Bruschettini*, da noi usato 1 volta sola.

* * *

Riassumendo, noi abbiamo ricercato il *b. emofilo nei morbillosi:*

65 volte nella secrezione congiuntivale con 49 esiti positivi . . . . . = 83 %;
21 volte nella secrezione nasale con 17 esiti positivi. = 80 %;
22 volte nella secrezione bronchiale con 20 esiti positivi . . . . . = 91 %;
16 volte nel sangue con 3 esiti positivi . . . . . = 18 %;
5 volte dal contenuto pleurico in pleuriti postmorbillose con 5 esiti positivi . . . . . = 100 %;
2 volte dal contenuto pericardico in pericarditi postmorbillose con 1 esito positivo e 1 negativo;
1 volta dal pus ascessuale in ascessi polmonari con 1 esito positivo;
1 volta dal pus meningeo in meningite postmorbillosa con 1 esito positivo;

e ne risulta dunque che il *bacillo emofilo* è stato, nelle epidemie durante le quali facemmo le nostre ricerche, non solo il microorganismo più frequentemente isolato ma anche quello che contemporaneamente si è molto più spesso di qualun altro trovato in varie muccose, e in casi gravi anche in cune sierose, tanto che se le nostre ricerche avessero pre duto quelle di *Pfeiffer* nella influenza, si sarebbe potuto

tribuire al *b. emofilo* un' azione specifica nel morbillo. Qualunque sia il valore da darsi a tale reperto, noi scorrendo la non ricca letteratura dell' argomento, crediamo di potere asserire che siamo stati i primi a rilevare questo fatto che, per lo meno, non è senza interesse anche per la tanto dibattuta questione della specificità del bacillo di *Pfeiffer*.

Anteriormente alla 1ª comunicazione, che facemmo in proposito all' Accademia Medico-Fisica Fiorentina il 23 maggio 1900, non si trova che un lavoro del *Paltauf* il quale nel 1899 trovò in 2 casi di broncopolmonite morbillosa e in 2 casi di difterite, insieme con altri batteri, il bacillo di *Pfeiffer*, e li considerò come casi di influenza mista.

Dopo noi, cioè nel 1901, *Albrecht* e *Ghon* in un caso di broncopolmonite postmorbillosa isolarono pure *post mortem* il bacillo di *Pfeiffer*. *Leiner* in 2 casi di difterite e broncopolmonite postmorbillosa ebbe lo stesso risultato, e finalmente *Jehle* in 23 casi di morbillo venuti a morte trovò 18 volte (80 %) il bacillo di *Pfeiffer* nella secrezione bronchiale e 15 volte (65 %) nel sangue. Seguono per ordine cronologico il *Süsswein*, che in 10 casi su 21 ha avuto esiti positivi dalla secrezione nasale o dalla secrezione bronchiale e in 1 caso anche da piccoli ascessi polmonari, mentre dal sangue non ha isolato che il diplococco o lo strettococco, *Pacchioni* colle già citate ricerche sul pus pleurico, e meningeo, e sul sangue del cuore, il *Caccia* e finalmente il *Liebscher* che nel 1903 ha riferito di aver studiato rispetto al bacillo di *Pfeiffer* 57 casi di morbillo limitando però le sue ricerche alla secrezione nasale, dove l' avrebbe riscontrato 11 volte, cioè nel 29,3 %, mentre nei 3 casi in cui ha fatto anche ricerche *post mortem* nei bronchi, ha isolato sempre il bacillo stesso e una volta in cultura pura.

Tanto *Jehle* che *Liebscher*, mettendo i risultati da essi ottenuti in rapporto con quelli molto anteriormente comunicati da *Canon* e *Pielicke* e poi da *Czaikowsky*, ritengono che i bacilli sottilissimi, non colorabili col *Gram* e di difficilissima coltivazione, osservati fin dal 1892 da *Canon* e *Pielicke* coll' esame microscopico nel sangue di 14 morbillosi e anche

nella secrezione congiuntivale, nasale e bronchiale, altro non sieno che i bacilli successivamente descritti da *Pfeiffer* nell' influenza.

Notiamo di passaggio che questi vari autori tedeschi non fanno menzione alcuna delle nostre comunicazioni per quanto estese traduzioni ne sieno state pubblicate anche nella *Medicinische Woche* per cura del dott. *Lebovici* (1).

Questo rapido cenno bibliografico dimostra intanto che il *frequente reperto di un bacillo emofilo* nelle muccose che di regola sogliono essere attaccate dal morbillo, nelle sierose le cui affezioni possono in epidemie gravi complicarlo ed eventualmente anche nel sangue dei morbillosi, non è un fatto accidentale, dovuto a speciali circostanze di esperimento in cui ci potremmo per avventura esser trovati noi qui in Firenze, ma un fenomeno abbastanza costante, che comincia ad esser osservato anche in altri paesi e che forse potrebbe anche meglio essere in avvenire confermato da nuovi osservatori, i quali come noi, si occupassero dell' argomento con una serie di ricerche più complete e più sistematiche e con qualche modificazione alla tecnica batteriologica come quella da noi introdotta nel terreno di cultura. Augurandoci che ciò avvenga, vediamo ora come si può spiegare questa presenza del bacillo emofilo nel morbillo. La questione fu ampiamente discussa all'Accademia Medico-Fisica Fiorentina il 20 maggio 1902, e in tale adunanza si presero in esame tre ipotesi.

La 1ª è quella della *infezione mista* accettata da *Albrecht*, *Ghon*, *Leiner*, *Jehle*, *Süsswein* e *Liebscher*, i quali, ritenendo dimostrata la specificità del bacillo di *Pfeiffer*, ammettono che nei casi da loro studiati si tratti di infezione mista di morbillo e di influenza, e *Jehle* trova nella malattia esantematica e nell' età infantile due ragioni per spiegare la così frequente batteriemia da bacilli di *Pfeiffer* da lui osservata. Questa ipotesi può accettarsi per casi isolati, come quelli di *Paltauf*, *Al-*

(1) Vedi *Die Medicinische Woche*, anno 1900, N. 15; anno 1901, N. 8; anno 1903, N. 9-11-13-14.

brecth e *Ghon*, per quelli di *Leiner*, che fece le sue ricerche in bambini morti allo Spedale in un semestre in cui vi erano molte polmoniti da influenza e finalmente per i casi di *Süsswein* che si trovò in circostanze epidemiologiche identiche e che, come vedremo parlando del saprofitismo del bacillo emofilo, ebbe risultati positivi non inferiori a quelli ottenuti nel morbillo, anche dai bronchi e dal sangue di bambini morti per difterite, pertosse, varicella e scarlattina, ma essa si adatta male ai risultati che si ebbero dalle nostre ricerche eseguite colla precauzione di fare l'esame batteriologico in casi esterni e interni, in ambienti differenti e in anni diversi, talchè sarebbe illogico e improbabile supporre che la maggior parte dei bambini ammalati di morbillo debbano, contemporaneamente o secondariamente, esser colpiti anche dall'influenza e specialmente in epoche assai lontane da precedenti epidemie di questa malattia, come fu appunto per noi in Firenze il periodo dicembre 1901-maggio 1902, nel quale mancarono, e mancavano già da un anno in città e nello Spedale casi d'influenza, che invece si erano avuti durante la 1ª epidemia di morbillo, cioè dell'inverno 1899-1900. Oltre a ciò all'ipotesi di una influenza secondaria complicante il morbillo contrasta il fatto (e lo riconoscono anche *Jehle*, *Süsswein* e *Liebscher*), che il bacillo emofilo si isola con altrettanta facilità dalle muccose dei morbillosi, in cui l'esantema segue il suo corso mite, normale, non complicato, come da quelle di bambini in cui il morbillo si complica per gravi affezioni delle vie respiratorie, e questa mancanza di rapporto fra la gravezza maggiore o minore dei sintomi e la presenza o l'assenza di un microorganismo che sarebbe l'agente patogeno dell'influenza, ci sembra pure un valido argomento contro l'ipotesi dell'infezione mista.

La 2ª è quella dell'*infezione secondaria* per opera di un microorganismo che sarebbe ospite abituale, o per lo meno frequente e inoffensivo, delle vie respiratorie, e che in varie malattie, fra le quali dovrebbero situarsi in prima linea l'influenza e il morbillo, troverebbe condizioni favorevoli a farsi virulento e quindi causa di complicanze e successioni morbose.

Sarebbe insomma sempre lo stesso bacillo emofilo, che da saprofita ordinario delle vie respiratorie e specialmente delle vie aeree superiori, in determinate circostanze, diverrebbe patogeno, e quindi si arriverebbe alla conclusione che il bacillo di *Pfeiffer* non è l'agente specifico dell'influenza. Questa ipotesi chiaramente enunciata dal *Rosenthal*, si fonda sul fatto che batteri con tutti i caratteri morfologici e biologici di quello di *Pfeiffer*, furono ripetutamente trovati in condizioni patologiche diverse e in epoche distanti dall'influenza da vari autori recenti, delle osservazioni de' quali avremo occasione di occuparci dettagliatamente nel capitolo che riferisce le nostre ricerche sul bacillo emofilo allo stato saprofitico. Ai sostenitori di questa teoria i risultati del nostro studio batteriologico sul morbillo porterebbero un appoggio, di cui non si può disconoscere il valore, poichè le altissime percentuali di reperti positivi di un bacillo identico a quello di *Pfeiffer* nelle secrezioni oculare, nasale e bronchiale dei morbillosi uguagliano se non superano quelle che *Pfeiffer* stesso e tanti altri osservatori dopo di lui hanno ottenuto negli esami batteriologici delle muccose degli influenzati. Ma questa 2ª ipotesi, che nella discussione già accennata dall'Accademia Medico-Fisica, parve la più accettabile, tantochè la sostennero scienziati autorevoli e competenti quali i professori *Banti* e *Mya*, è pur essa suscettibile di alcune obiezioni. In primo luogo il saprofitismo abituale del bacillo emofilo nelle vie respiratorie normali (come vedremo meglio in seguito) è tutt'altro che dimostrato, mentre esistono casi di morbillo e di influenza (e ne citiamo qualcuno anche noi) nei quali esami batteriologici anteriori a tali infezioni avrebbe dimostrato l'assenza di bacilli emofili dalle muccose; inoltre coll'ipotesi dell'infezione secondaria si arriva male a spiegare certi fatti, che sono stati molte volte accertati, ad esempio, l'essere il bacillo di *Pfeiffer* l'agente microbico prevalente e non di rado unico che si isola dalle secrezioni nasale e bronchiale nei primi stadi dell'influenza, il comportarsi in modo analogo del bacillo emo nella secrezione oculare e nasale del periodo prodromic anche in quello d'incubazione del morbillo, come noi abbia

potuto far rilevare in questo lavoro. Aggiungiamo che altri microorganismi, i quali vivono come saprofiti nelle vie alte respiratorie, possono durante il morbillo e l'influenza farsi virulenti e provocare infezioni secondarie, ad esempio il diplococco lanceolato e lo streptococco, ma nessuno invade con tanta frequenza le muccose oculare, nasale e bronchiale come il bacillo emofilo nel morbillo e il bacillo di *Pfeiffer* nell'influenza.

La 3ª ipotesi è che lo stesso bacillo emofilo per qualità patogene differenti, acquistate in forza di condizioni biologiche diverse e ancora sconosciute, possa, a seconda delle circostanze, essere l'agente specifico dell'influenza e del morbillo, oppure che i bacilii isolati dall'influenza e dal morbillo sieno varietà molto simili ma non identiche del gruppo degli emofili e rappresentino i germi patogeni di tali infezioni. Però tale ipotesi, che troverebbe un punto d'appoggio anche nelle affinità cliniche fra morbillo e influenza, per potersi sostenere avrebbe bisogno di prove, che finora non si posseggono, poichè per quante ricerche si sieno fatte, nessun carattere differenziale morfologico, vegetativo o sperimentale è stato possibile di dimostrare fra i diversi campioni di bacillo emofilo isolati nelle circostanze accennate e che formano appunto il tema di questo lavoro, se si eccettua qualche esperimento che farebbe supporre un maggior grado di virulenza nel bacillo emofilo del morbillo, ma che deve essere confermato da ricerche ulteriori.

L'ipotesi non è illogica e trova riscontro in molti altri punti di patologia delle malattie infettive; citiamo fra gli altri gli esempi che possiamo riscontrare nella famiglia del *bacterium coli:* sappiamo infatti che esistono varietà di coli le quali con caratteri culturali e morfologici uguali, diversificano fra loro solo per l'azione patogena differente, così abbiamo il coli semplicemente saprofita, quello che ha spiccata azione piogena, le varietà dissenteriche del *Kruse*, *Shiga*, *Celli* ed altre molte. Anche nella famiglia del colera dei polli abbiamo che soltanto l'azione patogena differente nelle differenti specie animali, serve a determinare la varietà di alcune forme batteriche uguali

nel resto assolutamente fra loro sia per caratteri morfologici che biologici. Accenneremo anche al diplococco capsulato del *Fraenkel* il quale, in determinate epidemie, ha spiccata azione pneumonitogena, in altre invece si localizza di preferenza nelle meningi cerebro-spinali, e, come questi, altri esempi potremmo portare i quali certo non farebbero che dimostrare sempre più la possibilità che l'ipotesi azzardata di oggi possa diventare la realtà provata del domani.

Tavola II.

Batteriologia del Morbillo.

A. — Esami batteriologici della secrezione congiuntivale.

1. *Focacci A.*, di anni 2 e mezzo. Ammessa il 16 dicembre 1899 per morbillo con laringite crupale e congiuntivite catarrale acuta. Morta il 19 dicembre 1899 per polmonite. (Vedi n. 1, Tav. II, C).	17 dicembre 1899. Cultura con pus congiuntivale in agar con sangue umano.	*Pseudo-difterico, diplococco* e *bacillo emofilo.*
2. *Della Scala A.*, di anni 1 e mezzo. Ammessa il 22 ottobre 1899 per rachitismo. Contrae il morbillo nello Spedale. L'esantema preceduto da congiuntivite grave compare il 3 gennaio 1900. Guarita. (Vedi n. 2, Tav. II, C).	2 e 3 gennaio 1900. Cultura con pus congiuntivale in agar con sangue umano, per disseminazione e per strisciamento.	*Pseudo-difterico, gonococco, diplococco* e molte colonie di *bacillo emofilo.*
3. *Fallani A.*, di anni 2 e mezzo. Ammessa il 7 novembre 1899 per enterite con prolasso rettale. Contrae il morbillo nello Spedale con congiuntivite catarrale grave. Muore il dì 7 gennaio 1900 per broncopolmonite. (Vedi n. 3, Tav. II, C).	3 gennaio 1900. Cultura con pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* e alcune colonie di *bacillo emofilo.*
4. *Pollini D.*, di mesi 20. Ammessa il 16 gennaio 1900 per morbillo con congiuntivite lieve e poi broncopolmonite. Guarita. (Vedi n. 4, Tav. II, C).	17 gennaio 1900. Cultura con muco congiuntivale in agar con sangue umano.	*Diplostreptococco, pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*

5. *Gardendi G.*, di anni 3. Ammesso il 16 gennaio 1900 per morbillo nell'acme eruttivo con leggiero catarro oculare. Guarito. (Vedi n. 5, Tav. II, C).	17 gennaio 1900. Cultura con muco congiuntivale in agar con sangue umano.	*Diplostreptococco* prevalente con qualche colonia di *bacillo emofilo.*
6. *Sassetti A.*, di anni 2 e mezzo. Ammessa il 21 gennaio 1900 per morbillo con lieve congiuntivite. Broncopolmonite. Guarita.	22 gennaio 1900. Cultura con muco congiuntivale in agar con sangue umano.	*Diplococco* e altri *cocchi* non precisati.
7. *Sereni B.*, di anni 2 e mezzo. Ammessa il 20 gennaio 1900 per morbillo.	22 gen. 1900. Cultura con muco congiuntivale in agar con sangue umano.	*Pseudo-difterico* e *diplostreptococco.*
8. *Giachi I.*, di anni 6. Ammessa il 20 dicembre 1899 per idiozia. Morbillo endogeno con lieve congiuntivite. Guarita il 1° marzo 1900.	23 gennaio 1900. Cultura con straccetto mucoso congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Una colonia di *stafilococco albo*, e molte di *bacillo emofilo.*
9. *Barducci Gino*, di anni 2. Ammesso il 5 gennaio 1900 per rachitismo, poi morbillo e broncopolmonite. Morto il 28 gennaio 1900. (Vedi n 6, Tav. II, C).	25 gennaio 1900. Da secrezione lacrimale culture in agar con sangue di piccione.	*Bacillo pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*
10. *Bonciani A.*, di anni 4. Ammesso il 20 gennaio 1900 per bronchite. Morbillo senza congiuntivite con semplice arrossamento e lacrimazione. Guarito.	8 febbraio 1900. Da secrezione lacrimale cultura in agar con sangue di piccione.	*Diplostreptococco, stafilococco* e *bacillo emofilo.*
11. *Pagni T.*, di anni 13. Ammessa il 16 febbraio 1900 per morbillo confluente, nell'acme, senza congiuntivite. Bronchite. Guarita.	17 febbraio 1900. Da secrezione lacrimale cultura in agar con sangue di piccione.	*Diplococco* e altri *cocchi* con qualche colonia di *pseudo-difterico.*
12. *Degli Innocenti V.*, di anni 2. Ammesso il 23 febbraio 1900 per morbillo con leggera congiuntivite e broncopolmonite, Guarito il 10 marzo 1900. (Vedi n. 7, Tav. II, C).	24 febbraio 1900. Cultura del muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico*, grosso *cocco* e *diplostreptococco.*
13. *Materassi R.*, di mesi 10, Ammessa il 23 febbraio 1900 per morbillo senza congiuntivite e poi broncopolmonite. Guarita il 23 marzo 1900. (Vedi n. 8, Tav. II, C).	26 febbraio 1900. Cultura di secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*

14. *Servi B.*, di anni 4. Ammesso il 28 febbraio 1900 per morbillo con congiuntivite lieve e bronchite. Guarito il 9 aprile 1900. (Vedi n. 9, Tav. II, C).	28 febbraio 1900. Cultura di muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Cocchi* vari e *diplococco.*
15. *Carrai C.*, di anni 18. Ammessa il 28 febbraio 1900 per morbillo e lieve congiuntivite, poi bronchite. Guarita il 17 marzo 1900.	28 febbraio 1900. Cultura di muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Cocchi* vari, *diplococco, pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*
16. *Minelli G.*, di mesi 15. Ammesso il 30 marzo 1900 per morbillo nel periodo più acuto con semplice catarro congiuntivale.	30 marzo 1900. Cultura col muco della congiuntiva in agar con sangue di piccione.	*Diplostreptococco, pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*
17. *Serri A.*, di anni 2. Ammesso il 31 marzo 1900 con congiuntivite e morbillo.	31 marzo 1900. Cultura con pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Grossi *cocchi* e *bacillo emofilo.*
18. *Bolgi G.*, di anni 9, Ammesso il 1° aprile 1900 per morbillo nell'acme con semplice catarro congiuntivale.	2 aprile 1900. Cultura con catarro congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo* e *pseudo-difterico.*
19. *M. S.*, di anni 2. Degente allo Spedale di Orbetello per eczema e morbillo senza congiuntivite. Eruzione incipiente. Guarito.	3 aprile 1900. Cultura con secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	Sviluppo prevalente del *bacillo emofilo*, con qualche colonia di *stafilococco albo.*
20. *L. S.*, di anni 5. Degente nello Spedale di Orbetello per psoriasi e morbillo con lieve catarro congiuntivale. Eruzione scarsa e incipiente. Guarito.	3 aprile 1900. Cultura del muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Diplococco, pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*
21. *Degli Innocenti Ernesto*, di anni 7. Degente nello Spedale di Orbetello per tigna favosa e morbillo con congiuntivite lieve. Eruzione incipiente. Guarito.	3 aprile 1900. Cultura del pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* e *diplococco.*
22. *Gallo E.*, di anni 4. Ammesso allo Spedale Meyer il 14 aprile 1900 per morbillo incipiente con modico catarro oculare. Guarito.	14 aprile 1900. Cultura dal muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Una colonia di *stafilococco a'* e moltissime *bacillo emofilo*

23. *Piccardi U.*, di anni 1 e mezzo. Ammesso il 29 marzo 1900 per rachitismo. Morbillo contratto nello Spedale il 30 aprile 1900. Guarito.	28 aprile 1900. Cultura con muco congiuntivale nel periodo prodromico in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco, pseudo-difterico* e molte colonie di *bacillo emofilo.*
24. *Pezzati R.*, di anni 4. Ammesso il 24 aprile 1900 per morbillo incipiente e lieve congiuntivite.	25 aprile 1900. Cultura con pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo* e *bacillo emofilo.*
25. *Pezzati A.*, di anni 1 e mezzo. Ammesso il 24 aprile 1900 per nefrite. È fratello del precedente e il 16 maggio presenta segni prodromici di morbillo (occhi arrossati e lacrimosi, sternuto, tosse secca): le prime papule compaiono il 19 maggio. Il 23 maggio l'eruzione è impallidita, non vi è stata congiuntivite.	16 maggio 1900. Cultura con secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione. 19 maggio. Ripetute le culture. 23 maggio. Ripetute le culture.	1) *Stafilococco* e *bacillo emofilo.* 2) *Stafilococco, pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.* 3) *Stafilococco, pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*
26. *Verdiani B.*, di anni 4. Ammessa il 25 aprile per croup difterico. Guarita di questo, contrae il morbillo. Il 16 maggio ha congiuntivite catarrale, tosse secca, sternuto e febbre. Il 18 maggio compaiono le prime papule di morbillo. La congiuntivite persiste fino al 23 maggio.	17 maggio 1900. Cultura con straccio muccoso congiuntivale in agar con sangue di piccione. 18 maggio, Ripetute le culture. 21 maggio. Ripetute le culture. 23 maggio. Ripetute le culture.	1) *Stafilococco albo* e *bacillo emofilo* prevalente. 2) *Stafilococco albo* e sempre *bacillo emofilo.* 3) Qualche colonia di *stafilococco* e molte di *bacillo emofilo.* 4) Molte colonie di *stafilococco.*
27. *Berti O.*, di anni 4. Ammessa il 17 maggio 1900. Morbillo e lieve catarro congiuntivale. Guarita.	18 maggio 1900. Cultura con straccetto muccoso in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*
28. *Bini B.*, di anni 4. Ammesso il 25 maggio 1900 per morbillo e congiuntivite.	25 maggio 1900. Cultura con pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico, stafilococco* e *bacillo emofilo.*
29. *Ragionieri V.* di anni 3. Morbillo confluente all'inizio del periodo decrescente. Leggiero catarro congiuntivale..	2 dicembre 1901. Cultura con muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Grosso *cocco, pseudo-difterico,* e 7 colonie di *bacillo emofilo.*

30. *Galli G.*, di mesi 18. Morbillo con broncopolmonite gravissima. Leggiero catarro congiuntivale. Morto il 4 dicembre 1901 poche ore dopo l'ammissione.	4 dicembre 1901. Cultura per strisciamento di straccetto muccoso in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo* ed *aureo* e molte colonie di *bacillo emofilo.*
31. *Mosca G.*, di anni 2. Morbillo nel periodo della defervescenza senza catarro congiuntivale.	6 dicembre 1901. Cultura della secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	Si sviluppa il solo *bacillo pseudo-difterico.*
32. *Comanducci Tosca*, di anni 8. Morbillo confluente nell'acme senza catarro congiuntivale.	7 dicembre 1901. Cultura della secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione. 26 dicembre 1901. Ripetuta la cultura.	1) Sviluppo abbondante e puro di colonie di *bacillo emofilo.* 2) Si sviluppa il *pseudo-difterico* e una colonia di *bacillo emofilo.*
33. *Picchianti A.*, di anni 7 (esterna). Morbillo discreto nel periodo di incremento con leggiero catarro congiuntivale.	11 dicembre 1901. Muco congiuntivale strisciato e disseminato in vari tubi di agar con sangue di piccione.	In tutti si sviluppa il *bacillo emofilo* unito a *diplococco* e *stafilococco.*
34. *Bonini L.*, di anni 6 (esterna). Morbillo confluente nell'acme con lieve catarro congiuntivale.	11 dicembre 1901. Disseminazione e strisciamento di muco congiuntivale in vari tubi di agar con sangue di piccione.	Grosso *cocco* non determinato, *pseudo-difterico* e molte colonie di *bacillo emofilo.*
35. *Brogini A.*, di anni 4. Morbillo nel periodo decrescente con broncopolmonite grave e senza congiuntivite. Morto.	14 dicembre 1901. Disseminazione e strisciamento di secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco* e *bacillo emofilo.*
36. *Comanducci Q.*, di anni 5. Morbillo nell'acme senza catarro congiuntivale. Ammesso il 7 dicembre.	17 dicembre 1901. Cultura con secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione. 26 dicembre 1901. Ripetute le culture in agar con sangue di piccione.	1) Sviluppo puro di colonie di *bacillo emofilo.* 2) Qualche colonia di *bacillo emofilo* e molte di *stafilococco* e *pseudo-difterico.*

37. *Catanzaro E.*, di anni 4 (esterna). Morbillo nel periodo prodromico senza congiuntivite. Comparsa delle prime papule il 28 dicembre.	27 dicembre 1901. Cultura delle secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	Sviluppo prevalente del *bacillo emofilo* con qualche colonia di *pseudo-difterico* e di *diplococco.*
38. *Noci L.*, di anni 6. Ammesso il 30 dicembre con eruzione morbillosa che comincia a impallidire e leggiero catarro congiuntivale. (Vedi n. 1, Tav. II, B).	30 dicembre 1901. Cultura del muco congiuntivale in agar con sangue di piccione. 23 gennaio 1902. Ripetute le culture in agar con sangue di piccione.	1) Moltissime colonie di *bacillo emofilo* con poche di *pseudo-difterico.* 2) *Pseudo-difterico* e *stafilococco aureo.*
39. *Alpi E.*, di anni 7. Morbillo nell'acme eruttivo senza catarro congiuntivale. (Vedi n. 2, Tav. II, B).	6 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco, pseudo-difterico* e *diplococco.*
40. *Noci F.*, di anni 5. Morbillo nel periodo d'incremento senza catarro congiuntivale. (Vedi n. 3, Tav. II, B).	8 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione. 23 gennaio 1902. Ripetuta la cultura.	1) Sviluppo prevalente del *bacillo emofilo* con qualche colonia di *pseudo-difterico.* 2) 4 colonie di *bacillo emofilo* con molte di *pseudo-difterico.*
41. *Sabbiani C.*, di anni 2. Morbillo grave nel periodo dell'acme, con laringite e bronchite. Morto il dì 11 gennaio. (Vedi n. 14, Tav. II, C e n. 4, Tav. II, B).	10 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	Sviluppo del solo *stafilococco.*
42. *Matteucci T.*, di anni 5. Morbillo senza congiuntivite. (Vedi n. 5, Tav. II, B).	13 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* e *stafilococco.*
43. *Barsi E.*, di anni 2. Morbillo incipiente senza congiuntivite. (Vedi n. 6, Tav. II, B).	14 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico.*
44. *Alpi G.*, di anni 3. Morbillo incipiente con catarro congiuntivale. (Vedi n. 7, Tav. II, B).	15 gennaio 1902. Cultura dal muco congiuntivale in agar con sangue di piccione e agar Lesage.	Nel primo, *pseudo-difterico, stafilococco albo* e *aureo* e *bacillo emofilo;* nel secondo, gli stessi *stafilococchi* soltanto.

45. *Bruzzi G.*, di anni 6. Morbillo incipiente con laringite grave con lieve catarro congiuntivale. (Vedi n. 8, Tav. II, B).	18 gennaio 1902. Cultura dal muco congiuntivale in agar con sangue di piccione e agar Lesage.	Nel primo, *pseudo-difterico*, grosso *cocco* e *bacillo emofilo;* nel secondo, *pseudo-difterico* e grosso *cocco*.
46. *Maggiorani G.*, di anni 5. Morbillo nell'acme con lieve catarro congiuntivale. (Vedi n. 9, Tav. II, B).	19 gennaio 1902 Cultura dal muco congiuntivale in in agar con sangue di piccione.	Qualche colonia di *pseudo-difterico* e di *stafilococco* e molte di *bacillo emofilo*.
47. *Maggiorani M.*, di anni 1. Morbillo nell'acme con congiuntivite. (Vedi n. 10, Tav. II, B).	19 gennaio 1902. Cultura dal pus congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco*, *pseudo-difterico* e *bacillo emofilo*.
48. *Biadaioli E.*, di anni 4 $^1/_2$. Laringite ipoglottiva prodromica di morbillo. (Vedi n. 11, Tav. II, B).	19 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* e *bacillo emofilo*.
49. *Ciampi L.*, di anni 7. Morbillo lieve nel periodo di defervescenza senza congiuntivite. (Vedi n. 12, Tav. II, B).	26 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo* e *pseudo-difterico*.
50. *Francioni D.*, di anni 4. Morbillo in defervescenza con laringite e senza congiuntivite. (Vedi n. 13, Tav. II, B).	27 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	Grosso *cocco* e *pseudo-difterico*.
51. *Cozzi L.*, di anni 8. Morbillo nel suo acme con lieve catarro congiuntivale. (Vedi n. 14, Tav. II, B).	28 gennaio 1902. Cultura dal muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* e *diplococco*.
52. *Gravano G.*, di anni 4. Morbillo nel periodo iniziale con laringite grave e senza congiuntivite. (Vedi n. 16, Tav. II, B).	4 febbraio 1902 Cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* puro.
53. *Mascalchi M.*, di anni 17. Morbillo confluente nell'acme con leggiero catarro congiuntivale.	11 febbraio 1902. Cultura con muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico* e *bacillo emofilo*.

54. *Domidano A.*, di 19 mesi. Morbillo nell'acme senza catarro oculare. (Vedi n. 17, Tav. II, B).	11 febbraio 1902. Cultura con secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico, diplococco* e *bacillo emofilo.*
55. *Benucci A.*, di anni 18. Morbillo incipiente con laringite e lieve catarro congiuntivale.	18 febbraio 1902. Cultura con muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico, stafilococco* e *bacillo emofilo.*
56. *Malvolti G.*, di anni 2. Ammessa nelle infermerie comuni il 18 febbraio 1902 per broncopolmonite, il 22 ha catarro oculare e coriza, e il 24 compaiono le prime papule morbillose per cui si passa al padiglione di isolamento ove muore per broncopolmonite. (Vedi n. 18, Tav. II, C).	22 febbraio 1902. Cultura con mucco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Sviluppo abbondantissimo del *bacillo emofilo* con qualche colonia di *pseudo-difterico.*
57. *Bartetti A.*, di anni 1 $^1/_2$. Ammessa nella stessa infermeria il 17 febbraio 1902 per rachitichismo. Si mantiene apirettica fino al 4 marzo. Il 3 marzo tosse secca, starnuto, arrossamento delle congiuntive. 5 marzo vomito, temp. 38°,5, segno di *Köplik* evidente e stomatite eritemo poltacea. 9 marzo, eruzione incipiente e passaggio al padiglione morbillosi Morte il 15 marzo per broncopolmonite. (Vedi n. 19, Tav. II, B).	25 febbraio 1902. Cultura colla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione. 3 marzo 1902. Ripetuta la cultura con straccetto muccoso congiuntivale.	1) Numerosissime colonie di *bacillo emofilo* con due di *stafilococco albo.* 2) *Bacillo emofilo* prevalente con qualche colonia di *pseudo-difterico* e *diplococco albo.*
58. *Merciai M.*, di anni 3. Degente nella stessa infermeria dal 14 gennaio 1902 per rachitismo e stomatite ulcerosa. Apirettica per tutto il febbraio 1902. Il 7 marzo la temperatura sale a 37°,8, vi è leggiero catarro congiuntivale e corizza. 8 marzo temp. sino a 39°,1. 11 marzo comincia l'eruzione e passa al padiglione morbillosi. (Vedi n. 20, Tav. II, B).	24 febbraio 1902. Cultura di secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione. 3 marzo 1902. Ripetuta la cultura dalla secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione. 8 marzo 1902. Ripetuta la cultura con muco congiuntivale.	1) Molte colonie di *pseudo-difterico* e qualcuna di *stafilococco.* 2) *Pseudo-difterico, stafilococco* e altro *cocco* più grosso. 3) *Stafilococco aureo* e *albo* e molte colonie di *bacillo emofilo.*

59. *Cortigiani F.*, di anni 2 $^1/_2$. Degente nella stessa sala dal dì 8 gennaio 1902 pér enterite e prolasso rettale. Comparsa della febbre il 22 marzo 1902, dell'eruzione il 24 marzo per cui si passa all'isolamento.	24 febbraio 1902. Cultura dalla secrezione lacrimale in agar sangue. 3 marzo 1902. Ripetuta la cultura dalla secr. lacrimale in agar sangue. 13 marzo 1902. Ripetuta la cultura dalla secr. lacrimale in agar sangue. 22 marzo 1902. Ripetuta la cultura dalla secr. lacrimale in agar sangue.	1) *Pseudo-difterico* e *diplococco.* 2) *Pseudo-difterico, diplococco* e grosso *cocco.* 3) *Pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.* 4) *Pseudo-difterico* e *bacillo emofilo.*
60. *Bongianni. G*, di anni 1 $^1/_2$. Ammesso il 13 luglio 1901 per atrepsia e broncopolmonite con esito in guarigione. Apirettico da più di 5 mesi. Il 3 marzo s'inizia un movimento febbrile cui il 5 marzo si aggiunge tosse insistente, catarro oculare e corizia. Il 7 marzo segno di *Köplik* e 8 marzo passato al padiglione morbillosi con eruzione incipiente vi muore il dì 11 di broncopolmonite. (Vedi n. 21, Tav. II, B e n. 21, Tav. II, C).	6 marzo 1902. Cultura da muco congiuntivale in 3 tubi di agar con sangue di piccione.	In tutti e tre si sviluppa abbondante e solo il *bacillo emofilo.*
61. *Ercolani N.*, di mesi 20. Ammesso il 5 novembre 1901 per empiema e guarito. Il 15 marzo 1902 ricomincia a febbricitare, il 20 vi è catarro naso-oculare e segno di *Köplik*, il 22 passa all'isolamento per morbillo.	21 marzo 1902. Cultura da muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	Poche colonie di *stafilococco*, moltissime di *bacillo emofilo.*
62. *Del Nibbio O.*, di mesi 15. Ammesso il 28 febbraio 1902 per bronchite lieve comincia ad aver febbre alta il 18 marzo. Il 24 marzo s'inizia l'eruzione morbillosa e si passa all'isolamento.	18 marzo 1902. Cultura da secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione. 24 marzo. Ripetuta la cultura dagli occhi.	Numerosissime colonie di *bacillo emofilo* con qualche colonia di *pseudo-difterico* e di *stafilococco* in tutte e due le ricerche.
63. *X....*, adulto con morbillo nell'acme. Contratto e decorso a Pisa.	20 marzo 1902. Cultura dal secreto congiuntivale fatta dal dott. Cionini assistente della Clinica medica di Pisa in 2 tubi in agar con sangue di piccione.	Scarse colonie di *pseudo-difterico* e *stafilococco*, numerose di *bacillo emofilo.*

64. *Bozzi A.*, di anni 3. Esterno. Morbillo incipiente con leggiero catarro congiuntivale.	12 aprile 1903. Cultura dal muco congiuntivale in 2 tubi di agar con sangue di piccione.	Molte colonie di *bacillo emofilo*, con poche di *pseudo-difterico* e di *stafilococco*.

B. — Esami batteriologici della secrezione nasale.

1. *Noci L.*, di anni 6. Ammesso il 30 dicembre 1901 con eruzione morbillosa nel periodo decrescente.	31 dicembre 1901. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione. 23 gennaio 1902. Ripetuta la cultura in agar con sangue di piccione.	1) *Stafilococco aureo*, grosso *cocco* e molte colonie di *bacillo emofilo*. 2) *Stafilococco aureo* e *bacillo emofilo*.
2. *Alpi E.*, di anni 7. Ammesso il dì 5 gennaio per morbillo nell'acme senza catarro congiuntivale.	6 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Varie colonie di *stafilococco albo*, qualcuna di *pseudo-difterico* e moltissime di *bacillo emofilo*.
3. *Noci F.*, di anni 5. Morbillo nel periodo d'incremento senza catarro congiuntivale.	8 gennaio 1902. Cultura dal muco nasale in agar con sangue di piccione. 23 gennaio 1902. Ripetuta la cultura in agar con sangue di piccione.	1) Sviluppo abbondantissimo del *bacillo emofilo* con poche colonie di un grosso *cocco*. 2) Grosso *cocco* e *diplococco*.
4. *Sabbiani C.*, di anni 2. Morbillo grave con laringite. Morto. (Vedi n. 14, Tav. II, C).	10 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Prevalente sviluppo del *bacillo emofilo* con qualche colonia di *stafilococco* e *diplococco*.
5. *Matteucci T.*, di anni 5. Morbillo incipiente senza congiuntivite.	13 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Sviluppo di numerose colonie di *bacillo emofilo* con qualche colonia di *diplococco* e *stafilococco aureo*.
6. *Bassi E.*, di anni 2. Morbillo incipiente senza congiuntivite.	14 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Grosso *cocco*, *diplococco*, *streptococco* e *bacillo emofilo*.

7. *Alpi G.*, di anni 3. Morbillo incipiente con lieve congiuntivite.	15 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione e in agar Lesage.	Da ambedue i mezzi di cultura *diplostreptococco*, *diplococco* e *cocchi* varii.
8. *Bruzzi G.*, di anni 6. Morbillo incipiente con laringite ipoglottica.	18 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue.	Prevalente sviluppo di un *cocco* grosso con qualche colonia di *bacillo emofilo*.
9. *Maggiorani G.*, di anni 5. Morbillo nell'acme con lieve congiuntivite e rinite.	19 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue.	Sviluppo puro del *bacillo emofilo*.
10. *Maggiorani M.*, di anni 1. Morbillo nell'acme con congiuntivite.	19 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue.	*Stafilococco*, *diplococco* e *pseudo-difterico*.
11. *Biadaioli E.*, di anni 4 ½. Laringite ipoglottica premorbillosa.	19 gennaio 1902. Cultura dal muco nasale in agar con sangue di piccione e in agar Lesage.	Nell'agar sangue, *pseudo-difterico*, *diplococco* e *bacillo emofilo*. Nell'agar Lesage *pseudo-difterico*, *diplococco* e altri *cocchi*.
12. *Ciampi L.*, di anni 7. Morbillo nel periodo di decrescenza.	26 gennaio 1902. Cultura dal muco nasale in agar con sangue di piccione e in agar Lesage.	In ambedue i mezzi di cultura si sviluppano *stafilococco*, *diplococco* e *pseudo-difterico*.
13. *Francioni D.*, di anni 4. Morbillo nel periodo di decrescenza senza congiuntivite.	27 gennaio 1902. Cultura dal muco nasale in agar con sangue di piccione e in agar Lesage.	In agar sangue *stafilococco aureo*, *pseudo-difterico* e una colonia di *bacillo emofilo*, in agar Lesage i primi due soltanto.
14. *Cozzi L.*, di anni 8. Morbillo nel suo acme con lieve congiuntivite.	28 gennaio 1902. Cultura dal muco nasale in agar con sangue di piccione.	*Pseudo-difterico*, *diplococco*, grosso *cocco* e grosso *bacillo* non determinati.
15. *Rovati E.*, di anni 4. Morbillo al principio della defervescenza con laringite.	30 gennaio 1902. Cultura dal muco nasale in agar con sangue di piccione.	Qualche colonia di *stafilococco albo* e moltissime di *bacillo emofilo*.

16. *Garavano G.*, di anni 4. Morbillo nel periodo iniziale con laringite grave e senza congiuntivite.	4 febbraio 1902. Cultura dal muco nasale in agar con sangue di piccione e agar Lesage.	Nel primo prevalente il *bacillo emofilo* con rare colonie di *pseudodifterico* e di *stafilococco*. Nel secondo manca il *bacillo emofilo*.
17. *Domidano A.*, di mesi 19. Morbillo dell'acme senza congiuntivite.	11 febbraio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Abbondantissimo sviluppo di *bacillo emofilo* con qualche colonia di *stafilococco albo*.
18. *Benucci A.*, di anni 18. Morbillo incipiente con lieve congiuntivite e laringite.	18 febbraio 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Varie colonie di *bacillo emofilo* con qualche colonia di *diplococco* e *stafilococco*.
19 *Barbetti A.*, di anni 1 $^1/_2$. Morbillo interno. Comparsa dell'eruzione il 9 marzo 1902.	8 marzo 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Poche colonie di *stafilococco* e molte di *bacillo emofilo*.
20. *Merciai M.*, di anni 3. Morbillo endogeno. Comparsa dell'eruzione il dì 9 marzo 1902.	8 marzo 1902. Cultura dalla secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Prevalente sviluppo del *bacillo emofilo* con qualche colonia di *stafilococco aureo* e *albo*.
21. *Borgianni G.*, di anni 1 $^1/_2$. Morbillo endogeno. Comparsa dell'eruzione il dì 8 marzo 1902. (Vedi n. 21, Tav. II, C).	8 marzo 1902. Cultura dalla secrezione nasale in in agar con sangue di piccione.	Molte colonie di *stafilococco albo* e *bacillo emofilo*, qualcuna di *diplococco*.

C. — Esami batteriologici della secrezione bronchiale dell'essudato polmonare, del pus pleurico, pericardico e meningeo.

1. *Focacci A.*, di anni 2 $^1/_2$. Morto il 19 dicembre 1899 per broncopolmonite e croup post-morbillosi. (Vedi n. 1, Tav. II, A).	20 dicembre 1899. Cultura dall'essudato polmonare preso nel punto di massima epatizzazione in tubi di agar siero, agar semplice e agar con sangue umano.	Si sviluppano un grosso *cocco* con colonie giallastre, il *bacillo difterico* e il *diplococco lanceolato*.

2. *Della Scala A.*, di mesi 15. Morbillo endogeno. Comparsa dell'eruzione il 3 gennaio 1900 con laringite e broncopolmonite a focolai confluenti nel terzo postero inferiore del polmone sinistro. Guarita. (Vedi n. 2, Tav. II, A).	5 gennaio 1900. Puntura esplorativa con siringa Tursini dal focolaio polmonitico. Si estrae sangue aereato che si innesta in agar con sangue umano, agar semplice, glicerinato e brodo.	Dai mezzi di cultura non contenenti emoglobina si sviluppa il solo *diplococco lanceolato* che uccide 2 topolini per setticemia, dall'agar con sangue il *bacillo emofilo* e il *diplococco*.
3. *Fallani A.*, di anni 2 ½. Morbillo endogeno. Morta il 7 gennaio 1900 per broncopolmonite. (Vedi n. 3, Tav. II, A).	8 gennaio 1900. Cultura dall'essudato bronchiale in agar semplice e e agar con sangue umano.	Da agar semplice *stafilococco* e *diplococco*, da agar con sangue gli stessi, più molte colonie di *bacillo emofilo*.
4. *Pollini D.*, di mesi 20. Ammesso il 16 gennaio per morbillo nell'acme cui segue broncopolmonite. Guarito. (Vedi n. 4, Tav. II, A).	18 gennaio 1900. Puntura con siringa Tursini da focolaio broncopneumonico destro con estrazione di sangue aereato che si innesta in agar con sangue umano.	Si sviluppano soltanto molte colonie di *bacillo emofilo*.
5. *Gardensi G.*, di anni 3. Ammesso il 16 gennaio 1900 con morbillo nell'acme e lieve bronchite. Guarito. (Vedi n. 5, Tav. II, A).	19 gennaio 1900. Puntura col solito metodo nel punto posteriore del torace destro dove sono più fitti i rantoli e estrazione di sangue aereato che s'innesta in 2 tubi di agar con sangue umano.	Discreto sviluppo di colonie di *bacillo emofilo*.
6. *Barducci G.*, di anni 2. Morbillo endogeno. Morto per broncopolmonite il 28 gennaio 1900.	29 gennaio 1900. Succo bronchiale raschiato e innestato in agar semplice e agar con sangue di piccione.	In agar semplice grosso *cocco* non resistente al Gram e *diplococco*, e in agar sangue i medesimi più il *bacillo emofilo*.
7. *Degli Innocenti O.*, di anni 2. Ammesso il 23 febbraio 1900 per morbillo in acme cui segue lieve broncopolmonite. Guarito. (Vedi n. 12, Tav. II, A).	26 febbraio 1900. Aspirazione diretta da focolaio broncopneumonico e innesto del sangue estratto in agar semplice, brodo e agar con sangue di piccione.	Si sviluppa il solo *diplococco lanceolato*.

8. *Materassi R.*, di mesi 10. Ammesso il 23 febbraio 1900 per morbillo con successiva polmonite. Guarito. (Vedi n. 13, Tav. II, A).	26 febbraio 1900. Aspirazione diretta dal focolaio pneumonico e seminagione del sangue ottenuto in agar semplice, brodo e agar con sangue di piccione.	Si sviluppano il *bacillo emofilo* e *uno stafilococco albo* nei tubi di agar sangue, il *solo stafilococco* negli altri.
9. *Servi B.*, di anni 4. Ammesso il 28 febbraio 1900 per morbillo cui segue lieve bronchite. Guarito. (Vedi n. 14, Tav. II, A).	2 marzo 1900. Aspirazione diretta dal focolaio pneumonico e cultura in agar con sangue di piccione.	Scarso sviluppo del *bacillo emofilo*.
10. *Camici U.*, di anni 7. Ammesso il 24 marzo 1900 per broncopolmonite post-morbillosa e tubercolosi. Morto il 10 aprile 1900.	11 aprile 1900. Cultura dall'essudato bronchiale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococchi vari, diplococco* e *bacillo emofilo*.
11. *Faleni P.*, di anni 2. Ammesso il 16 gennaio 1900 per ascesso cerebrale cronico. Morbillo endogeno. Morto il 5 maggio 1900 con broncopolmonite.	6 maggio 1900. Cultura dall' essudato bronchiale in agar con sangue di piccione.	*Streptococco piogeno* e *bacillo emofilo*.
12. *Rossi Ezio*, di mesi 11. Morto il 12 novembre 1900 per broncopolmonite post-morbillosa.	13 novembre 1900. Cultura dall'essudato polmonare in agar con sangue di piccione.	Grosso *cocco* non determinato e molte colonie di *bacillo emofilo*.
13. *Manetti E.*, di anni 2. Morto il 4 gennaio 1902 per broncopolmonite post-morbillosa con esantema sempre visibile.	5 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale in agar semplice e agar con sangue di piccione.	*Stafilococco* albo, *diplococco lanceolato* e *bacillo emofilo*.
14. *Sabbiani C.*, di anni 2. Morto il dì 11 gennaio per broncopolmonite nell'acme dell'eruzione morbillosa. (Vedi n. 41, Tav. II, A e n. 4, Tav. II, B).	12 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale in agar con sangue di piccione e in agar Lesage.	Sviluppo quasi puro del *bacillo emofilo* con 8 o 4 colonie di *diplococco* nell'agar sangue. Cultura atrofica poi rigogliosa con l'aggiunta di sangue di piccione nell'agar Lesage [1].

[1] Questo è l'unico caso nel quale il *bacillo emofilo* sia nato sull'agar Lesage. (Vedi pag. 548).

15. *Bellini B*, di anni 4. Morto il 9 febbraio 1902 per broncopolmonite e laringite morbillosa.	11 febbraio 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale in agar sangue e agar Lesage.	In agar sangue sviluppo molto prevalente del *bacillo emofilo* con qualche colonia di *stafilococco aureo* e *albo*, e *diplococco*, in agar Lesage manca il *bacillo emofilo*.
16. *Savini P.*, di anni 3 ½. Ammesso il 12 febbraio 1902 per laringite e morbillo, morto per broncopolmonite il 18 febbraio 1902.	19 febbraio 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale in agar sangue e agar Lesage.	In agar sangue molte colonie di *bacillo emofilo* con *streptococco* e *stafilococco albo*, in agar Lesage soli questi due.
17. *Banchi A.*, di anni 2. Morto per broncopolmonite morbillosa il 28 febbraio 1902.	29 febbraio 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale in agar con sangue di piccione.	Numerose colonie di *bacillo emofilo* miste ad alcune di *stafilococco aureo*.
18. *Malvolti G.*, di anni 2. Broncopolmonite post-morbillosa. Morta il 3 marzo, 7 giorni dopo l'inizio dell'esantema. (Vedi n. 56, Tav. II, A).	4 marzo 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale in agar con sangue e agar Lesage.	Nei tubi di agar sangue *bacillo emofilo* misto a *stafilococco aureo diplococco* e *streptococco*, agar Lesage i medesimi meno il *bacillo emofilo*.
19. *Salaorni C.*, di mesi 19. Ammesso il 19 febbraio 1902 per morbillo, morto per broncopolmonite, pleurite e pericardite purulenta il 3 marzo 1902.	4 marzo 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale, dell'essudato pleurico e pericardico in agar con sangue di piccione.	Dalla secrezione bronchiale *bacillo emofilo*. Dalla pleura *bacillo emofilo*. Dal pericardio *stafilococco aureo* e *bacillo emofilo*.
20. *Del Nibbio O.*, di mesi 15. Passato ai morbillosi il 24 marzo, morto il 27 marzo per broncopolmonite con pleurite fibrinosa a destra, sierofibrinosa a sinistra. (Vedi n. 63, Tav. II, A).	28 marzo 1902. Cultura dagli stracci fibrinosi della pleura in agar sangue.	*Stafilococco aureo* e *bacillo emofilo*.
21. *Bongianni G.*, di anni 1 ½. Morbillo endogeno con esantema, comparso il dì 8 marzo 1902. Morto il 12 marzo per broncopolmonite. (Vedi n. 61, Tav. II, A, e n. 21, Tav. II, B).	13 marzo 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale in agar Lesage e agar con sangue.	Da agar sangue *diplococco streptococco* e *bacillo emofilo*, da agar Lesage *diplococco* e *streptococco*.

22. *Testi E.*, di anni 2. Ammesso il 24 febbraio 1902 per laringite e morbillo. Morto il 18 marzo per broncopolmonite, pleurite e pericardite sierofibrinose. (Vedi n. 16, Tav. II, D).	14 marzo 1902. Cultura dalla secrezione bronchiale, e dell'essudato pleurico e pericardico in agar con sangue.	Dalla secrezione bronchiale *bacillo emofilo con diplococco* e *stafilococchi albo* e *aureo*. Dalla cultura dell'essudato pleurico *stafilococco aureo* e *bacillo emofilo*. Dalla cultura dell'essudato *pericardico diplococco* e *stafilococco*.
23. *Bellettini Stefano*, di anni 4. Degente nella sezione chirurgica dal 31 ottobre 1901 per coxite sinistra. Nel marzo 1902 contrae il morbillo e passa al padiglione d'isolamento, dove muore per broncopolmonite e pleurite fibrinosa destra il 27 marzo 1902.	28 marzo 1902. Cultura dagli stracci fibrinosi della pleura in agar con sangue.	Sviluppo abbondante di colonie *bacillo emofilo* con qualche colonia di *stafilococco*.
24. *Montelatici B.*, di anni 3, ammesso il 6 aprile 1902 per laringite e morbillo, morta il 13 aprile per broncopolmonite.	7 aprile 1902. Cultura dall'essudato broncopneumonico in agar sangue.	*Diplococco, stafilococco aureo* e *bacillo emofilo*.
25. *Colli A.*, di mesi 8. Ammessa il 12 aprile 1902 per morbillo iniziale(?). Morta il 24 aprile per broncopolmonite, pleurite e meningite purulenta.	25 aprile 1902. Cultura col pus pleurale e meningeo in agar sangue.	Da ambedue si sviluppa il *bacillo emofilo* in cultura pura.
26. *Gucciarelli A.*, di mesi 11. Ammessa il 27 febbraio 1902 per morbillo, morta il 8 maggio per broncopolmonite con piccoli ascessi da peribronchite.	4 maggio 1902. Cultura col pus degli ascessi in agar sangue.	Si sviluppa prevalentemente il *bacillo emofilo* con varie colonie di *stafilococchi*.

D. — Esame batteriologico del sangue.

1. *Focacci A.*, di anni 2 e mezzo. Morto il 19 dicembre per croup e broncopolmonite post-morbillosa.	20 dicembre 1899. Sangue del cuore raccolto all'autopsia e innestato in tubi di agar semplice e agar con sangue umano.	Si sviluppa soltanto il *diplococco lanceolato*, che uccide un topolino per setticemia.

2. *Fallani A.*, di anni 2 e mezzo. Morta il 7 gennaio 1900, per broncopolmonite morbillosa.	8 gennaio 1900. Sangue del cuore raccolto all'autopsia e innestato in tubi di agar semplice e agar con sangue umano.	Nei mezzi di cultura senza emoglobina si sviluppa soltanto lo *stafilococco albo*, in quelli con sangue lo stesso *stafilococco* e il *bacillo emofilo*.
3. *Sassetti A.*, di anni 2 e mezzo. Ammesso il 21 gennaio 1900 per morbillo in decrescenza. Guarito. (Vedi n. 6, Tav. II, A).	22 gennaio 1900. Sangue estratto con siringa Tursini da una vena del pugno sinistro e innestato in agar semplice e agar con sangue umano.	Tutti i tubi innestati restano sterili.
4. *Sanesi B.*, di anni 2 e mezzo. Ammesso il 20 gennaio 1900 per morbillo nell'acme. Guarito. (Vedi n. 7, Tav. II, A).	22 gennaio 1900. Sangue estratto con siringa Tursini da una vena del pugno sinistro e innestato in agar semplice e agar con sangue umano.	Tutti i mezzi di cultura adoperati restano sterili.
5. *Barducci G.*, di anni 2. Morbillo endogeno e broncopolmonite. Morto il 28 gennaio 1900. (Vedi n. 9, Tav. II, A).	29 gennaio 1900. All'autopsia sangue del cuore e della milza innestato in agar con sangue e agar semplice.	Si sviluppa in tutti tubi tanto dal sangue del cuore come dal succo splenico il solo *diplococco lanceolato*.
6. *Servi B.*, di anni 4. Morbillo. Ammesso nel periodo dell'acme il 28 febbraio 1900 e poi broncopolmonite. Guarito. (Vedi n. 14, Tav. II, A).	2 marzo 1900. Sangue estratto da una vena del pugno sinistro e innestato in brodo, agar semplice e agar con sangue di piccione.	Tutti i tubi restano sterili.
7. *Carrai C.*, di anni 13. Ammessa il 28 febbraio 1900 per morbillo cui segue lieve bronchite. Guarita. (Vedi n. 15, Tav. II, A).	2 marzo 1900. Sangue estratto e coltivato in agar semplice e agar con sangue di piccione.	Tutti i tubi restano sterili.

8. *Minelli G.*, di mesi 15. Ammesso il 30 marzo 1900 per morbillo confluente nell'acme. Guarito. (Vedi n. 16, Tav. II, A).	30 marzo 1900. Sangue estratto da una vena e coltivato in agar semplice e agar con sangue di piccione e inoculato nella vena dell'orecchio di un coniglio.	Le culture restano sterili. Il coniglio muore dopo 2 giorni; raschiato il succo dei tessuti incisi nel punto dell'iniezione auricolare, si innesta in altri tubi con agar semplice e agar con sangue e restano sterili.
9. *Bolgi G.*, di anni 9. Ammesso il 1° aprile 1900 per morbillo nell'acme. Guarito. (Vedi n. 18, Tav. II, A).	2 aprile 1900. Aspirazione del sangue da una vena del pugno, culture in brodo e agar sangue e inoculazione sottocutanea a un coniglio.	Le culture dirette del sangue restano sterili e sterili pure quelle fatte col liquido ottenuto 2 giorni dopo dal raschiamento del punto d'iniezione al coniglio.
10. *Degli Innocenti E.*, di anni 7. Degente nello Spedale di Orbatello per morbillo incipiente. (Vedi n. 21, Tav. II, A).	3 aprile 1900. Aspirazione del sangue da una vena del pugno e ripetizione delle culture e dell'esperimento sopradescritto.	Tutte le culture restano sterili.
11. *Faleni P.*, di anni 2. Morto per broncopolmonite postmorbillosa il 5 maggio 1900.	6 maggio 1900. Cultura del sangue del cuore in agar semplice e con sangue di piccione.	*Strettococco piogeno* e *bacillo emofilo.*
12. *Galli G.*, di anni 1 e mezzo. Morto per bronco-polmonite morbillosa il 4 dicembre 1901. (Vedi n. 30, Tav. II, A).	5 dicembre 1901. Cultura del sangue del cuore in agar semplice e agar con sangue.	Culture rimaste sterili.
13. *Brogini A.*, di anni 4. Morto per broncopolmonite morbillosa il 15 dicembre 1901. (Vedi n. 35, Tav. II, A).	16 dicembre 1901. Cultura del sangue del cuore in agar semplice e con sangue di piccione.	Si sviluppa il solo *diplococco lanceolato.*
14. *Manetti E.*, di anni 2. Morto il 4 gennaio per broncopolmonite postmorbillosa.	5 gennaio 1902. Cultura del sangue del cuore in agar semplice e agar con sangue.	Culture rimaste sterili.

15. *Sabbiani C.*, di anni 2. Morto il dì 11 gennaio per broncopolmonite morbillosa (Vedi n. 41, Tav. II, *A*).	12 gennaio 1902. Cultura del sangue del cuore prima tenuto 24 ore nella stufa insieme a brodo e poi innestato in agar sangue e agar semplice.	Si sviluppa il *diplococco lanceolato*.
16. *Testi E.*, di anni 2. Morto il 13 marzo 1902 per broncopolmonite postmorbillosa con pleurite.	14 marzo 1902. Cultura del sangue del cuore in agar semplice e agar sangue.	Numerose colonie di *diplococco lanceolato* e qualche colonia di *bacillo emofilo* in agar sangue, il solo *diplococco* in agar semplice.

III. — Influenza.

Le ricerche da noi istituite in alcuni casi d'influenza non ebbero per scopo di confermare quel che era ormai stato dimostrato da tanti osservatori dopo lo *Pfeiffer*, cioè l'importanza del *bacillo emofilo*, da questi descritto, nella batteriologia dell'influenza, ma piuttosto furono ispirate dal desiderio di confrontare un campione sicuro del bacillo di *Pfeiffer* col microrganismo che avevamo con tanta frequenza isolato dalle mucose dei morbillosi. Prima di tali ricerche noi avevamo soltanto potuto fare qualche studio comparativo con culture riprodotte da un campione che ci eravamo procurati dal laboratorio di *Kràl* di Praga, ma i risultati ci davano poco affidamento sia perchè era possibile che il bacillo nei successivi trapianti avesse perduto della sua virulenza, sia perchè per informazioni avute dal *Kràl* ci constava che il campione proveniva originariamente dal laboratorio del *Cantani* e non sapevamo se era stato isolato da un caso clinicamente tipi di influenza acuta.

Dall'autunno 1900 all'autunno 1901 ci fu però impo bile fare quanto ci eravamo proposti, poichè in tale bien

si ebbero bensì a osservare nella città nostra dei casi isolati di affezioni acute delle vie respiratorie con qualche sintomo grippale e talvolta anche con reperto di *bacillo emofilo* nella secrezione bronchiale, mancarono però in essi quei caratteri epidemiologici e clinici che sono propri dell'influenza, e d'altra parte le ricerche batteriologiche furono fatte nello spedale Meyer mentre in questo e nella città infieriva una epidemia di morbillo, e quindi, per ragioni facili a comprendersi e che spiegheremo anche nel trattare del saprofitismo dei bacilli emofili, i campioni così ottenuti ci sembrarono sospetti.

Ma al principio dell'inverno 1902-1903 ricomparve e durò lungamente in Firenze, come in molte altre città e paesi, l'*influenza tipica a forma epidemica* e ciò facilitò il nostro compito e rese possibili le ricerche, di cui riferiamo i risultati.

I casi studiati furono in tutti 17 e cioè 14 in bambini dello spedale Meyer e 3 in adulti esterni.

I 14 casi di influenza infantile appartengono tutti a bambini che per altre malattie erano da un tempo più o meno lungo degenti nello spedale senza febbre. Questi bambini, in un periodo che va dal 4 novembre 1902 al 6 marzo 1903, furono improvvisamente colti da febbre con sintomi grippali, quali coriza, faringite, tosse stizzosa ecc., cui seguirono laringite, bronchite, o bronco-polmonite più o meno gravi e in 2 casi anche otite media purulenta; noi pel modo col quale si svolse questa epidemia interna, che attaccò 11 bambini nello spazio di un solo mese contemporaneamente alla grande epidemia esterna della città, crediamo di poterli sicuramente considerare come casi di influenza tipica. I 3 adulti offrirono poi una tale sintomatologia da non lasciar dubbio in proposito. Notevole il fatto, già del resto descritto con tutti i dettagli nel capitolo della congiuntivite acuta, che l'inizio della epidemia interna d'influenza nella infermeria del turno medico, fu accompagnata dalla ricomparsa di alcuni casi di *congiuntivite catarrale acuta* da bacillo emofilo, mentre per lungo tempo non si era tale malattia verificata nel turno stesso.

Nei 17 casi d'influenza si studiò batteriologicamente 3 volte la secrezione oculare con 2 risultati positivi pel *bacillo*

emofilo 2 volte la secrezione nasale con 2 risultati positivi e 15 volte la secrezione bronchiale con 12 risultati positivi.

In 8 casi si potè raccogliere l'espettorato in capsule del *Petri* sterilizzate, dal quale si fecero in agar semplice e agar sangue le disseminazioni cogli zaffi mucosi o muco-purulenti prima più volte lavati in brodo o acqua sterilizzata per liberarli il più possibile dai prodotti estranei della secrezione buccale e nasofaringea.

Da questi 8 si ottenne nel periodo acuto dell'influenza costantemente il *bacillo di Pfeiffer*, puro nel caso 13°, misto a poche colonie di *stafilococco* nel 14°, sempre abbondante pel numero delle sue colonie, ma unito a *diplococchi*, *strettococchi stafilococchi*, ecc., negli altri 6 casi. In 7 bambini, che per la loro età variabile da 14 mesi a 3 anni non sputavano, il materiale di cultura fu estratto direttamente, mediante puntura del polmone con siringa *Tursini*, il cui ago sottile veniva infisso là dove vi erano segni chiari di broncopolmonite o di bronchite. Da questo si ebbe 3 volte il *bacillo di Pfeiffer puro*, una volta associato al *diplococco*, in 1 caso si coltivò il solo *diplococco*, in 1 caso il *diplococco* associato allo *stafilococco albo*, e in un ultimo caso infine le culture rimasero sterili. Dunque complessivamente si ebbero su 15 esami della secrezione bronchiale 12 risultati positivi che equivalgono all'80 °/₀, cifra un po' inferiore di quella che avevamo verificato nello studio della secrezione bronchiale dei morbillosi. Dal pus auricolare del caso 5° si fecero pure culture in agar sangue ripetute 2 volte, ma si sviluppò soltanto il *diplococco lanceolato* con un piccolo *cocco* non determinato.

Riassumendo infine i risultati che ci sembrano più importanti della Tav. III, nella quale sono i medesimi fatti esposti con maggiori dettagli, noi facciamo rilevare:

1° Che il *bacillo di Pfeiffer* si è isolato dai bronchi in 12 casi su 14, in cui le culture diedero esito positivo mentre il *diplococco* si è trovato solo 8 volte;

2° Che il bacillo stesso si è coltivato allo stato di rezza 4 volte e cioè 3 coll'aspirazione diretta dal focolaio br copneumonico e una volta coll'innesto dell'escreato in uno più tipici casi di bronchite grippale (osserv. 13ª);

3° Che in 2 casi (osserv. 10ª e 17ª) si è constatato, coll'insorgere dell'influenza, il *bacillo di Pfeiffer* nell'escreato il quale per antecedenti ricerche ne risultava privo.

4° Che in un discreto numero di casi (osserv. 2ª, 5ª, 8ª, 11ª, 12ª), terminata l'influenza, sia colla puntura del polmone, sia coll'esame diretto dell'escreato, si è potuta dimostrare la scomparsa del *bacillo di Pfeiffer* il quale invece persistette per lungo tempo anche dopo l'attacco grippale e poi scomparve, in un bambino sifilitico con caverna polmonare (osserv. 10ª), fatto già rilevato dal *Pfeiffer* e da altri autori, e in un bambino che precedentemente aveva sofferto di pertosse (osserv. 17ª).

Questi fatti, uniti a quelli molto più numerosi osservati dagli autori che dopo il *Pfeiffer* hanno studiato l'influenza, provano che il *bacillo emofilo* ha per lo meno una parte prevalente nella batteriologia di tale infezione. Però, come accennavamo in principio, il nostro scopo principale era quello di confrontare il bacillo isolato dai casi d'influenza con quelli isolati dai casi di morbillo e a tal uopo vari campioni, da noi ottenuti colle citate ricerche, furono sottoposti a uno studio accurato batteriologico e sperimentale; per maggiore chiarezza esporremo dettagliatamente nel capitolo che tratta dei caratteri morfologici e biologici dei *bacilli emofili* i risultati di questi studii.

Tavola III.

Batteriologia dell'influenza.

1. *Polidori F.*, di anni 2. Ammesso il 28 ottobre 1902 per rachitismo, apirettico fino al 4 novembre, giorno in cui si iniziò l'influenza seguita poi da broncopolmonite. Morto il 12 dicembre 1902.	6 novembre 1902. Puntura del focolaio broncopneumonico e cultura dal muco estratto in brodo, agar semplice e agar con sangue di piccione. 13 dicembre 1902. Cultura in agar sangue con essudato polmonare e con pus di un piccolo ascesso al lobo inferiore del polmone destro.	1) In brodo e in agar semplice nasce il *diplococco lanceolato*, in agar sangue *diplococco* e *bacillo emofilo*. 2) Dall'essudato polmonare e dal pus nasce il solo *diplococco*.

2. *Pruneti E.*, di mesi 14. Ammessa il 13 novembre 1902 per enterite, apirettica fino al 25 novembre, giorno in cui comincia l'influenza. Bronchite diffusa, confluente alla base del polmone sinistro. Guarita dopo un lungo decorso della broncopolmonite.	27 novembre 1902. Puntura del focolaio broncopneumonico e estrazione di sangue aereato, che si semina in brodo, agar semplice e agar con sangue di piccione. 22 dicembre 1902. Ripetuta la puntura nel solito punto e la cultura in brodo, agar semplice e agar con sangue di piccione.	1) I tubi di brodo e agar semplice restano sterili, in agar sangue nasce in cultura pura il *bacillo emofilo.* 2) Scarso sviluppo in tutti i mezzi di cultura del *diplococco lanceolato.*
3. *Ceccantini A.*, di anni 9. Ammessa il 23 settembre 1902 per tifo, apirettica fino dal 30 ottobre. Il 31 novembre s'inizia l'influenza seguita da bronchite catarrale a decorso rapido. Guarita.	2 dicembre 1902. Disseminazione dell'escreato, raccolto in capsule del Petri e più volte lavato in brodo, in vari tubi di agar semplice e agar con sangue di piccione.	Nei tubi di agar semplice nascono il *diplococco*, e lo *stafilococco albo*, in quelli con sangue si sviluppa prevalentemente il *bacillo emofilo.*
4. *Quartucci O.*, di anni 1 e mezzo Ammessa il 30 ottobre 1902 per itterizia catarrale. Apirettica fino al 16 novembre, in cui principia l'influenza seguita da focolaio bronco-pneumonico del polmone destro. Risoluzione rapida.	19 novembre 1902. Puntura del focolaio broncopneumonico e estrazione di sangue aereato che si semina in brodo, agar semplice e agar sangue.	Tutte le culture rimangono sterili.
5. *Falorni V.*, di anni 10. Ammesso il 16 ottobre 1902 per tifo. Apirettico dal 17 novembre. Il 27 novembre s'inizia l'influenza con bronchite diffusa e poi otite media purulenta bilaterale. Guarito 8 gennaio 1903.	3 dicembre 1902. Cult. dall'escreato col solito metodo in agar semplice e agar con sangue di piccione. 9 dicembre 1902. Ripetuta la cultura in agar semplice e agar con sangue di piccione. 13 dicembre 1902. Ripetuta la cultura in agar semplice e agar con sangue di piccione.	1) *Stafilococco albo*, *diplococco* e *cocchi* vari, e nei tubi con agar sangue anche molte colonie di *bacillo emofilo.* 2) Si sviluppano soltanto il *diplococco*, lo *streptococco* i vari *cocchi.* 3) Identico risultato.

Seguito del n. 5, *Falorni V.*	9 e 13 dicembre 1902. Fatte culture anche col pus degli orecchi.	4) Dal pus auricolare si sviluppano soltanto il *diplococco lanceolato* e un *cocco* minuto, non resistente al Gram ma coltivabile in agar semplice.
6. *Barcucci A.*, di mesi 15. Ammesso il 25 ottobre 1902 per rachitismo e splenomegalia. Apirettico fino al 4 dicembre, epoca del principio dell' influenza seguita da broncopolmonite. Guarito.	6 dicembre 1902. Aspirazione diretta dal polmone destro di sangue aereato che si dissemina in brodo, agar semplice e agar sangue.	Nascono il *diplococco lanceolato* e un *cocco* non colorantesi col Gram.
7. *Pandolfini L.*, di anni 3. Ammessa il 5 ottobre 1902 per rachitismo. Apirettica fino al 6 dicembre, contrae influenza broncopolmonite e otite media purulenta sinistra. Guarita.	10 dicembre 1902. Aspirazione diretta dal focolaio broncopneumonico di sangue aereato, innestato in brodo agar semplice e agar con sangue di piccione.	Si sviluppa il solo *diplococco lanceolato.*
8. *Fabbri M.*, di anni 1 e mezzo. Ammesso il 3 novembre 1902 per rachitismo e enterite. Apirettico fino al 4 dicembre, epoca in cui con sintomi grippali s'inizia una broncopolmonite bilaterale a andamento lento e recidivante. Non ancora guarito il 5 aprile 1903.	12 dicembre 1902. Aspirazione diretta dalla base del polmone destro di muco-pus misto a sangue, che si innesta in brodo, agar semplice e agar con sangue di piccione. 22 gennaio 1903. Ripetuta la cultura in brodo, agar semplice e agar con sangue di piccione.	1) Sterili i tubi di brodo e di agar semplice, in agar sangue si sviluppa il *bacillo emofilo* in cultura pura. 2) Si sviluppa solo il *diplococco lanceolato.*
9. *Rosignoli E.*, di anni 9. Ammesso il 2 dicembre 1902 per anemia e infiltrazione incipiente dell' apice polmonare destro. Apirettico fino al 16 dicembre, in cui s' inizia influenza con semplice laringite e guarigione rapida. Guarito 8 gennaio 1903.	17 dicembre 1902. Cult. dall'escreato muco-salivare in agar semplice e agar con sangue di piccione.	Sviluppo prevalente di colonie di *bacillo emofilo* con qualche colonia di *diplococco* e di altri *cocchi* non determinati.

10. *Menegazzi G.*, di anni 8. Ammesso il 10 giugno 1902 per caverna di natura sifilitica dell'apice sinistro. Apirettico fino al 17 dicembre, giorno in cui s'inizia l'influenza con coriza, laringite e poi bronchite catarrale, che scompare nello spazio di 2 settimane. Guarito. (Vedi n. 24, Tav. IV, C).	10 giugno 1902. Cultura in agar semplice e agar sangue dall'escreato purulento. 11 dicembre 1902. Ripetuta la cultura in agar semplice e agar sangue. 21 dicembre 1902. Ripetuta la cultura in agar semplice e agar sangue. 23 gennaio 1903. Ripetuta la cultura in agar semplice e agar sangue. 11 marzo 1903. Ripetuta la cultura in agar semplice e agar sangue. 27 aprile 1903. Ripetuta la cultura in agar semplice e agar sangue. 3 maggio 1903. Ripetuta la cultura in agar semplice e agar sangue.	1) *Streptococco, stafilococco aureo* e altri *bacteri* non determinati. 2) *Streptococco, stafilococco aureo diplococco* o altri *bacteri.* 3) Varie colonie di *bacillo emofilo* misto ai precedenti. 4) Persistono varie colonie di *bacillo emofilo* coi precedenti. 5) Qualche colonia di *bacillo emofilo* con molte di *streptococco, diplococco*, ecc. 6) Si sviluppano soltanto lo *streptococco*, lo *stafilococco aureo* e *altri batteri.* 7) Si sviluppano gli stessi microrganismi senza il *bacillo emofilo* come nell'esperienza precedente.
11. *Fossi L.*, di anni 2. Ammesso il 24 novembre 1902 per rachitismo ed enterite. Apirettico fino al 12 dicembre. Influenza con successiva broncopolmonite bilaterale. Guarito il 10 febbraio 1903.	14 dicembre 1902. Puntura del polmone sinistro alla base e disseminazione del sangue aereato estratto in brodo, agar semplice e agar sangue. 25 gennaio 1903. Ripetuta la puntura e la cultura in agar semplice e agar sangue.	1) In brodo e agar semplice nessuno sviluppo di batteri; in agar con sangue cultura pura di *bacillo emofilo.* 2) Le culture restano sterili.
12. *C. G.*, di anni 39. Sofferente di faringite cronica dei fumatori. 13 dicembre 1902. Influenza tipica con coriza e laringite. Guarigione rapida.	15 dicembre 1902. Cult. dall'escreato laringeo in brodo, agar semplice e agar sangue. 25 gennaio 1903. Ripetuta la cultura con muco faringeo.	1) In brodo e agar semplice *cocchi* vari e *diplococco*, in agar sangue i medesimi e il *bacillo emofilo.* 2) *Cocchi* vari, *diplococco*, e *bacillo pseudodifterico.*

13. *Z. L.*, di anni 40 Uomo sano. e robusto. Apirettico fino al 18 dicembre 1902. Influenza tipica con bronchite catarrale successiva. Guarito dopo due settimane.	20 dicembre 1902. Cult. dall'escreato prima lavato in brodo e poi innestato per disseminazione in 3 tubi di agar con sangue di piccione.	In tutti i tubi sviluppo di numerose colonie di *bacillo emofilo* in cultura pura.
14. *F. L.*, di anni 22. Signorina sana e robusta. Apirettica fino al 14 gennaio 1903. Influenza tipica con successiva bronchite. Guarita in 3 settimane.	18 gennaio 1903. Cult. dall'escreato in agar con sangue di piccione.	Numerosissime colonie di *bacillo emofilo*, misto a qualcuna di *stafilococco albo*.
15. *Cenci I.*, di anni 2. Ammessa il 6 gennaio 1903 per paralisi infantile. Apirettica fino al 2 marzo. Il 2 marzo la temperatura sale a 38.8 con lacrimazione, sternuto, scolo nasale e tosse secca. Febbre alta per 3 giorni; esame dell'apparato respiratorio negativo. Guarigione.	4 marzo 1903. Cultura in agar sangue colla secrezione nasale e oculare.	1) Da secrezione oculare molte colonie di *bacillo emofilo*, con alcune di *stafilococco albo*, da secrezione nasale molte colonie di *bacillo emofilo* con altre di *streptococco*, *diplococco*, e *batteri* vari.
	7 marzo 1903. Ripetuta la cultura da secrezione oculare e nasale.	2) Persistono colonie di *bacillo emofilo* nelle culture di secrezione oculare e nasale.
	15 marzo 1903. Ripetuta la cultura da secrezione oculare e nasale.	3) Da secrezione oculare *bacillo pseudodifterico* e *stafilococco albo*, da secrezione nasale *cocchi* vari, *streptococco e diplococco*.
16. *Bagni A.*, di mesi 7. Ammessa il 10 febbraio 1903 per atrepsia e mughetto. Apirettica fino al 6 marzo, giorno in cui la temperatura sale a 38.3 con lieve congiuntivite catarrale e coriza. Partenza volontaria il 12 marzo.	1 marzo 1903. Cultura in agar sangue da secrezione lacrimale e da secrezione nasale.	1) Da secrezione oculare *bacillo pseudodifterico* e *stafilococco albo*, da secrezione nasale *diplococco streptococco*, *cocchi vari*.
	6 marzo 1903. Ripetuta la cultura in agar sangue da muco oculare e nasale.	2) Da secrezione oculare cultura pura di *bacillo emofilo*, da secrezione nasale *cocchi vari*, *diplococco e streptococco*.

Seguito del n. 16, *Bagni A.*	7 marzo 1903. Ripetuta la cultura in agar sangue.	3) *Bacillo emofilo* anche da secrezione nasale.
17. *Mazzucconi M.*, di anni 8. Ammesso il 18 ottobre 1902 per pertosse e broncopolmonite. Persiste catarro bronchiale apirettico dal 29 ottobre in poi. Il 6 febbraio influenza con febbre alta, coriza, scolo purulento nasofaringeo e accentuazione della tosse. Dal 10 febbraio leggera febbre a tipo remittente, il 23 febbraio eruzione morbilliforme. Guarito. (Vedi n. 29, Tav. IV, C).	9 novembre 1902. Cult. dall'escreato, brevi passaggi in brodo, in agar con sangue di piccione.	1) *Diplococco, streptococco* e *cocchi vari.*
	8 febbraio 1903. Ripetuta la cultura in agar con sangue di piccione.	2) *Diplococco, vari batteri* non determinati e molte colonie di *bacillo emofilo.*
	23 febbraio 1903. Ripetuta la cultura in agar con sangue di piccione e fatta anche la cultura da secrezione lacrimale.	3) Sviluppo quasi puro di colonie di *bacillo emofilo.*
	20 marzo 1902. Ripetuta la cultura in agar sangue coll'escreato.	4) *Diplococco, batteri vari* e molte colonie di *bacillo emofilo.*
	11 aprile 1903. Ripetuta la cultura in agar sangue coll'escreato.	5) Persistono insieme ad altre varie colonie di *bacillo emofilo.*
	28 aprile 1903. Ripetuta la cultura in agar sangue coll'escreato.	6) Si nota sempre la presenza di colonie di *bacillo emofilo.*
	Nel maggio cessata la tosse e quindi l'escreato.	

IV. — Il bacillo emofilo allo stato saprofitico.

Dopochè lo *Pfeiffer* ebbe annunciata la sua scoperta, seguì una lunga serie di studi tutti confermanti l'importanza del bacillo da lui descritto come agente specifico dell'influenza, e poichè lo stesso *Pfeiffer* nel 1893, in 3 casi di broncopolmonite postdifterica infantile, in tempi immuni dall' influenza, aveva isolato un bacillo che aveva grandi somiglianze col primo ma se ne distingueva soltanto per qualche carattere morfologico (bacilli più grossi con tendenza a formare filamenti lunghi e

curvi) e l'aveva chiamato *bacillo della pseudoinfluenza*, si ammise anche questa varietà. Ma le ricerche ulteriori di *Pielicke*, *Delius* e *Kolle*, *Grassberger*, *Lindenthal* ecc. hanno dimostrato che questa distinzione non ha ragione di esistere, e che il bacillo di *Pfeiffer* può presentare un polimorfismo molto accentuato a seconda dei terreni naturali di cultura da cui proviene, o di quelli artificiali in cui si cerca di mantenerlo in vita, e quindi, abbandonato il concetto di due tipi di bacilli distinti secondochè provenivano da malati d'influenza o da altri, *Lindenthal* propose di chiamare casi d'*influenza sporadica* quelli nei quali dalle vie respiratorie in tempi lontani da epidemia si isolava un microorganismo simile a quello di *Pfeiffer;* più recentemente molti hanno adottato la denominazione di *influenza mista* per mantenere il concetto della specificità al microorganismo di *Pfeiffer* e spiegare al tempo stesso il suo frequente reperto nelle più svariate malattie (*Paltauf*, *Yehle*, *Süsswein*, *Leiner*, *Liebscher* ecc.). — A questo concetto il *Rosenthal*, fondandosi specialmente sulle ricerche proprie e su quelle di *Elmassian*, ha sostituito quello del *saprofitismo*, egli cioè considera il bacillo di *Pfeiffer* come un ospite abituale delle vie respiratorie, capace in circostanze multiple, e specialmente nell'influenza, di divenire virulento e provocare flogosi broncopolmonari o pleurali senza però essere l'agente patogeno dell'influenza stessa.

Prima di discutere questa nuova teoria, vediamo brevemente in quali circostanze il bacillo stesso è stato ritrovato al di fuori dell'influenza tipica. Già *Pfeiffer* aveva notato che nelle *caverne dei tubercolosi* può il microorganismo, che porta il suo nome, vivere lungamente allo stato latente per poi rifarsi virulento ed infettare altri individui, e la cosa era stata confermata da *Finkler:* poi lo stesso *Pfeiffer* aveva isolato un bacillo simile da 3 casi di *broncopolmonite postdifterica* come sopra abbiamo accennato; ma le osservazioni più importanti sono state fatte assai recentemente, e cioè dal 1899 in poi per opera di *Paltauf*, che isolò il bacillo di *Pfeiffer* dai bronchi in 2 casi di *difterite*, di *Elmassian*, che ha trovato un bacillo simile 8 volte su 32 in bambini affetti da *pertosse*, e di *Rosenthal* il quale su 23 casi di *broncopolmonite infantile* ha isolato

15 volte dai bronchi il b. di *Pfeiffer*. Seguono le ricerche, già citate a proposito del morbillo, di *Jehle* il quale in 48 casi di *scarlattina* ha trovato il b. stesso 19 volte nei bronchi e 22 volte nel sangue; in 9 casi di *varicella*, 9 volte nei bronchi e 5 nel sangue; in 15 casi di *difterite*, 9 volte nei bronchi e 1 nel sangue, in 24 casi di *pertosse*, 24 nei bronchi e 2 nel sangue; le ricerche di *Jundell* che su 30 casi di *bronchite* o *broncopolmonite primitiva*, o *secondaria* a varie malattie, compresa l'influenza e il morbillo, ha ottenuto 16 volte il bacillo di *Pfeiffer*, e finalmente quelle di *Leiner* che in 11 casi di *broncopolmonite postdifterica* ha trovato costantemente insieme col bacillo di *Löffler* anche quello di *Pfeiffer*. Tralasciamo di citare ancora, perchè già l'abbiamo fatto in altro capitolo, i frequentissimi reperti di bacillo di *Pfeiffer* o di uno simile a questo, constatati da noi, da *Jehle*, *Süsswein*, *Liebscher* ecc. nei bronchi dei bambini morbillosi.

Da questo riassunto apparisce dunque chiaramente che un *bacillo emofilo* è stato in questi ultimi anni isolato spesso, oltrechè da malati di morbillo e d'influenza, anche dai bronchi di bambini affetti da *bronchite* o *bronco-polmonite primitiva* o *secondaria* a *difterite*, *pertosse*, *scarlattina* o *varicella*. Però per dare il loro giusto valore a questi risultati bisogna aggiungere che la maggior parte di tali esami batteriologici fu eseguita in bambini morti negli Spedali infantili, bambini, che per le affezioni catarrali dei bronchi proprie della malattia primitiva da cui erano affetti, presentavano una disposizione speciale a contrarre infezioni secondarie e che facilmente queste potevano accadere per contagio del *bacillo emofilo*, proveniente sia da malati d'influenza che di morbillo, nei quali ultimi, come noi abbiamo dimostrato, sembra il bacillo stesso possa trovarsi su molte muccose allo stato virulento. Questo è tanto vero che *Jehle*, *Paultauf*, *Leiner* e *Liebscher*, tenendo conto di tali circostanze, e di aver fatto le loro ricerche in ambienti e in epoche in cui dominava l'influenza, ritengono, come si è già accennato, di aver dimostrato tanti casi di *infezione mista*, cioè di influenza associata ad altre malattie infettive infantili; e certo in condizioni epidemiologiche

speciali si deve esser trovato *Jehle*, che in diverse malattie infettive dei bambini, in un periodo che va dall'aprile 1899 al luglio 1900, non solo dai bronchi, ma anche dal sangue, ha isolato il bacillo emofilo con tale frequenza da non aver riscontro in nessun'altra osservazione consimile. — E anche le conclusioni di *Emalssian* e di *Rosenthal*, cioè dei principali sostenitori del saprofitismo, non si possono accettare senza riserva, poichè il primo studiò i casi di pertosse nella primavera del 1899, quando a Parigi vi era l'influenza a forma epidemica, e il secondo la *broncopolmonite* nel luglio e nel settembre del medesimo anno, ossia a una distanza troppo breve dalla stessa epidemia, per potere con tanta sicurezza escludere che la presenza del bacillo di *Pfeiffer* in tali casi fosse in rapporto colla precedente influenza. Ma a parte queste considerazioni, è indubitato che il trovare un bacillo emofilo in casi di bronchite o broncopolmonite primitiva o secondaria non è argomento sufficiente per asserire che tale microorganismo è un ospite abituale e inoffensivo, un saprofita nello stretto senso della parola delle vie respiratorie: per giungere a tale conclusione bisognerebbe almeno aver fatto molte ricerche sulla presenza o assenza del bacillo stesso sulle muccose degli organi respiratori in condizioni normali e preferibilmente in luoghi e in tempi liberi da influenza. Questo non hanno fatto sinora nè quegli autori, che ammettono la specificità del bacillo di *Pfeiffer* nè quelli che, come *Elmassian* e *Rosenthal*, gli negano tale valore e lo considerano come un semplice saprofita, capace solo in date circostanze di divenire virulento e agente di infezioni secondarie, come tanti altri batteri pneumonitogeni. Noi abbiamo tentato di colmare questa lacuna, ma siamo per ora lungi dall'aver raggiunto lo scopo, sia perchè il numero delle nostre osservazioni è ancora troppo scarso per poterne trarre conclusioni definitive, sia perchè, avendo noi trovato nelle muccose dei bambini affetti da morbillo un bacillo emofilo in condizioni quasi identiche a quelle di *Pfeiffer* per l'influenza, ci siamo imbattuti in una doppia difficoltà e cioè nella quasi assoluta impossibilità di fare esami batteriologici delle muccose delle vie respiratorie in luoghi e in epoche con-

temporaneamente liberi dall' influenza e dal morbillo. Ciò nonostante riserbandoci di continuare tale studio, che per risolvere la questione del saprofitismo ci sembra importantissimo, riferiamo intanto i risultati che abbiamo ottenuto fin qui.

Una prima serie di ricerche fu da noi fatta sulla *muccosa congiuntivale normale*, la quale, se non può sembrare interessante per chi ammette l'abituale vita saprofitica del bacillo di *Pfeiffer* sulle muccose delle vie respiratorie, aveva uno speciale interesse per noi, che dalla congiuntiva avevamo iniziato i nostri studi batteriologici sul morbillo e sulla congiuntivite catarrale acuta, che dalle congiuntive stesse in queste due malattie avevamo coltivato e isolato un microorganismo con caratteri morfologici e biologici tanto simili a quelli del bacillo di *Pfeiffer*.

Nel triennio 1900–1902 abbiamo, con mezzi di cultura contenenti emoglobina, simili a quelli usati per gli occhi dei bambini morbillosi e di quelli con congiuntivite catarrale acuta, fatto l' esame batteriologico della *secrezione congiuntivale* in 34 casi, 31 dei quali con congiuntiva normale e 3 con congiuntivite granulosa. Come dimostra la Tav. IV, A, servirono a queste ricerche bambini sani o affetti da svariate malattie, alcuni esterni, la massima parte degenti allo Spedale Meyer, ma esaminati quasi tutti al momento dell' ammissione o poco dopo, e ciò per evitare il più possibile il dubbio di possibili contagi da bacillo emofilo in ambienti dove dominava la congiuntivite acuta, il morbillo o l' influenza. In tutto si ebbero 2 risultati positivi, cioè fu isolato il bacillo emofilo in 2 soli casi (osserv. 17 e 18) e ambedue le volte nel decembre 1901, quando cioè s' iniziava quella epidemia di morbillo, che per numero dei colpiti fu più grave delle precedenti. 2 casi su 34 fanno una proporzione di 5,8 $^{0}/_{0}$, e però possiamo conchiudere che il bacillo emofilo non è un ospite abituale della congiuntiva normale, e tanto maggior valore acquistano i risultati che abbiamo avuti dall' esame batteriologico della congiuntiva nel morbillo.

Molto importante per la questione del saprofitismo sarebbe una serie numerosa di ricerche della *secrezione nasale* e *faringea*, inquantochè con essa entriamo veramente nel campo delle

funzioni alte respiratorie e perchè il cavo naso-faringeo suol essere il ricettacolo di molti altri microorganismi saprofiti e facoltativamente patogeni, ma noi per ora abbiamo potuto fare pochi esami della *secrezione nasale* che sono enumerati nella Tav. IV, B. Nel gennaio e nel febbraio 1902 si fecero in agar con sangue di piccione le culture in 11 casi di bambini esterni o interni, colle stesse precauzioni usate per l'esame della secrezione congiuntivale e si ebbero in tutto 4 risultativi positivi, pari al 36,3 %, ma bisogna notare che quello era il periodo dell'epidemia morbillosa già citata. Il prolungare fino all'autunno di questa epidemia, cui seguì quasi subito in Firenze l'influenza, ci trattenne dal fare altre ricerche, che riprenderemo in occasione più favorevole. Se personalmente non possiamo dir molto sulla frequenza del bacillo emofilo allo stato saprofitico nella muccosa nasale, e se non abbiamo trovato nella bibliografia citazioni in proposito, dobbiamo però riferire le recentissime ricerche del *Liebscher*, il quale a Praga oltrechè nel morbillo, esaminò la secrezione nasale in 60 casi di scarlattina con esito positivo pel bacillo emofilo in 3 casi (5 %), in molti casi di varicella, pertosse, rosolia con esito costantemente negativo, e in 30 casi di bambini sani con 3 esiti positivi (10 %), ma l'autore stesso osserva che 2 di questi ultimi avevano da poco avuto il morbillo. Se le ricerche del *Liebscher* verranno confermate, dovremo conchiudere che anche per la muccosa nasale la presenza del bacillo emofilo allo stato saprofitico è molto rara.

Finalmente noi abbiamo nella parte 3ª della Tav. IV riunito 37 casi, senza morbillo nè influenza, in 35 dei quali fu fatto l'esame batteriologico della *secrezione bronchiale*, raccolta in capsule del *Petri* sterilizzate dai bambini che sapevano espellere l'escreato, oppure in pochi casi estratta dal polmone con punture esplorative, oppure direttamente presa dai bronchi *post mortem;* in 2 casi si fecero le culture dal *pus dei piccoli ascessi peribronchiali* trovati all'autopsia (osserv. 30-36), in 4 casi le culture dell'*essudato pleurico sierofibrinoso o purulento* (osserv. 22, 32, 36, 37). Da 35 esami della secrezione bronchiale si ebbe reperto positivo del bacillo emofilo 12 volte,

ossia nel 36 °/₀, da 4 esami dell' essudato pleurico risultato costantemente negativo, dai 2 esami degli ascessi peribronchiali 1 resultato negativo e 1 positivo nell'osservazione 30, cioè in un caso di gravissima broncopolmonite postdifterica, nella quale anche dalla secrezione bronchiale in vita e *post mortem* si era isolato il bacillo emofilo.

Le malattie di questo gruppo d' osservazione furono:

	Numero dei casi	Esiti positivi
Bronchite e broncopolmonite primitiva	10	3
Polmonite crupale	2	0
Tubercolosi o sifilide polmonare	6	3
Bronchite o broncopolmonite da pertosse	6	2
» da croup difterico	6	2
» da varicella	2	1
» da scarlattina	2	0
» da noma	1	0
Gastroenterite acuta con bronchi normali	1	1
Debolezza congenita con bronchi normali	1	0
	37	12

Per la massima parte di queste nostre ricerche sulla secrezione bronchiale bisogna dunque fare le stesse riserve, che esponemmo a proposito di quelle degli autori che ci hanno preceduti in tali studi, poichè la *broncopolmonite primitiva* o *secondaria* fu anche in quasi tutti i casi nostri contratta nello Spedale in epoche in cui vi erano casi di morbillo o d' influenza o quando queste due malattie regnavano epidemiche in città, per cui non si può escludere la possibilità di una infezione secondaria, e se ne può trarre soltanto la conseguenza, come pei casi di *Elmassian*, *Rosenthal*, *Jehle*, *Leiner* ecc., che il *bacillo emofilo*, in flogosi bronchiali o broncopolmonari di diversa natura, è un microbo della flora patologica del polmone da collocarsi probabilmente nel gruppo degli altri agenti pneumonitogeni cui è quasi sempre associato (diplococco, streptococco, stafilococchi piogeni, ecc.),

In condizioni dell' apparato respiratorio veramente normali (osserv. 18 e 21, Tav. IV, C) si ebbe 1 risultato negativo e

1 positivo, che si ottenne dall'esame batteriologico della secrezione bronchiale, raccolta *post mortem* in un bambino, il quale ammesso allo Spedale Meyer per gastroenterite acutissima, morì dopo poche ore di soggiorno nelle infermerie e non presentò all'autopsia alcun segno di flogosi bronchiale e polmonare. Possibile è quindi lo stato saprofitico propriamente detto del bacillo emofilo sulla muccosa dei bronchi, ma se questo saprofitismo sia frequente o no è ancora da dimostrarsi e sarà dimostrato soltanto quando si saranno fatte ricerche in numero sufficiente sia pei bronchi normali, profittando specialmente dei casi in cui la morte sia avvenuta per causa rapida o violenta e non dopo lunga degenza in uno Spedale, sia sui bronchi ammalati, ma in luoghi e in epoche immuni da contemporanee o recenti epidemie di morbillo e d'influenza, o quando si possa, come è accaduto a noi in qualche raro caso (osserv. 10 e 17, Tav. III) provare in individui già esaminati per precedenti affezioni delle vie respiratorie (caverna sifilitica, pertosse, ecc.), la comparsa, in occasione di un grippe o di un morbillo intercorrente, di quel bacillo emofilo, che prima era assente dalla secrezione bronchiale.

Per ora i pochi reperti di bacillo emofilo allo stato saprofitico sulle muccose oculare, nasale e bronchiale, sopratutto se si considera che lo stesso avviene per altri microorganismi patogeni, non bastano a infirmare l'ipotesi che lo stesso bacillo fattosi, per ragioni biologiche ancora ignote, virulento possa divenire l'agente patogeno di malattie infettive anche a forma epidemica.

Tavola IV.

A. — **Bacillo emofilo negli occhi normali e nelle congiuntiviti croniche.**

1. *Benelli Augusta*, di anni 9. Ammessa il 31 dicembre 1899 per corea.	1° gennaio 1900. Cultura della secrezione lacrimale fatta in agar sangue umano e agar siero.	Da agar sangue *diplococco lanceolato*. Da agar siero *stafilococco albo* e *diplococco*.

2. *Mazzanti Emma*, di anni 2. Ammessa il 14 febbraio 1900 per ascessi tubercolari multipli.	15 febbraio 1900. Cultura in agar sangue misto con secrezione lacrimale.	Molte colonie *bacillo pseudo-difterico*, alcune di *diplococco* e altre di un *cocco* non resistente al Gram.
3. *Giacomelli R.*, di anni 4. Degente nell' infermeria speciale per difterite dal 18 febbraio 1900.	25 febbraio 1900. Cultura in agar sangue misto.	Sviluppo di poche colonie di *diplostreptococco*.
4. *Utili Virginia*, di anni 4 e mezzo. Degente nella stessa infermeria per difterite dal 19 febbraio.	25 febbraio 1900. Cultura in agar sangue.	*Cocco* non resistente al Gram e *pseudo-difterico*.
5. *Resti A.*, di anni 13. Venuto alla poliambulanza chirurgica il 12 marzo per artrite fungosa del gomito destro.	12 marzo 1900. Cultura fatta immediatamente in agar sangue umano.	Si sviluppano molte colonie di *pseudo-difterico*.
6. *Scorbeni A.*, di anni 12. Venuto alla poliambulanza chirurgica il 12 marzo per adeniti scrofolose cervicali.	12 marzo 1900. Cultura fatta subito in agar sangue umano.	Scarso sviluppo di *bacillo pseudo-difterico*.
7. *Conti Virginia*, di mesi 18. Ammessa il 18 marzo per croup difterico.	19 marzo 1900. Cultura in agar sangue misto.	Sviluppo prevalente del *bacillo pseudo-difterico* misto a *cocchi* non determinati.
8. *Mazzoni Bruno*, anni 4. Ammesso il 19 marzo per enterite.	19 marzo 1900. Cultura fatta al momento dell'ammissione in agar sangue umano.	Sviluppo del solo *bacillo pseudo-difterico*.
9. *Riot Lea*, di anni 5. Ammessa il 4 maggio 1900 per croup difterico.	4 maggio 1900. Cultura al momento dell'ammissione in agar sangue umano.	Sviluppo di *stafilococco albo* e *pseudo-difterico*.
10. *Passignani Palmira*, di anni 3. Ammessa il 26 marzo. Stomatite e itterizia.	9 aprile 1900. Cultura in agar sangue di piccione.	Sviluppo di *cocco* non determinato, *pseudo-difterico* e *diplostreptococco*.
11. *Manelli Clorinda*, di anni 3. Ammessa il 12 maggio per febbre gastrica.	16 maggio 1900. Cultura in agar sangue di piccione.	Si sviluppa solo il *diplococco*.
12. *Bacci Ida*, di anni 6. Ammessa il 12 novembre 1901 per isterismo.	18 novembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco albo*.
13. *Callaioli Giuseppa*, di mesi 20. Ammessa il 3 dicembre 1901 per pleurite purulenta.	4 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco albo*, *pseudo-difterico*, *cocco* non resistente al Gram.

14. *Rayna Edgardo*, di anni 5. Esterno, affetto da broncopolmonite.	11 dicembre 1901. Cultura in agar semplice e agar sangue di piccione.	*Diplococco* e *bacillo pseudo-difterico.*
15. *Carradossi Angiolo*, di anni 9. Epilessia. Ammesso il 10 dicembre.	10 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco albo.*
16. *Stanziani Carlo*, di anni 7. Ammesso il 10 dicembre per febbre tifoidea.	10 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco albo* e piccolo *cocco* non resistente al Gram a colonie non trasparenti.
17. *Magniducci Agnese*, di anni 7. Ammessa il 14 dicembre per tifo. Ha avuto il morbillo qualche anno prima.	15 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco albo*, *pseudo-difterico* e qualche colonia di *bacillo emofilo.*
18. *Tuti V.*, di anni 4. Esterno. Bambino sano.	17 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco*, *pseudo-difterico*, *bacillo emofilo.*
19. *Bambino* di 19 giorni, venuto alla poliambulanza per fungo ombellicale.	17 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco albo* e *pseudo-difterico.*
20. *Lepori Giovanni*, di anni 16. Sano. Esterno.	17 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	Si sviluppa solo il *bacillo pseudo-difterico.*
21. *Asso Gina*, di anni 9. Esterna con lieve bronchite.	19 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco albo* e *pseudo-difterico.*
22. *Mazzelli Alberto*, di anni 7. Ammesso il 24 dicembre per gastroenterite.	25 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Pseudo - difterico.*
23. *Pepi R.*, di 18 mesi. Esterna. Coriza e bronchite.	30 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco*, *diplococco* e *pseudo-difterico.*
24. *Gotti C.*, di anni 7. Esterno. Venuto alla policlinica per corea minor. Ha avuto in casa leggiera congiuntivite.	31 dicembre 1901. Cultura in agar sangue di piccione.	*Stafilococco*, *diplococco* e *pseudo-difterico.*
25. *Franciolini M.*, di mesi 18. Esterna. Coriza e tosse, in seguito bronchite catarrale.	1 gennaio 1902. Cultura da lacrime raccolte nel cul di sacco congiuntivale assai arrossato.	*Cocco* non resistente al Gram, a colonie non trasparenti, *pseudo-difterico.*
26. *Biffoli Lola*, di anni 7. Ammessa il dì 11 gennaio per tenia.	11 gennaio 1902. Cultura fatta al momento dell'ammissione.	*Diplostreptococco* e *pseudo-difterico.*

27. *Azzurrini Federigo*, di anni 2. Esterno. Affetto da coriza, laringite, tosse stizzosa con febbre, cui seguì bronchite.	11 gennaio 1902. Cultura dalla secrezione dalla congiuntiva arrossata.	*Pseudo-difterico* e qualche colonia di *stafilococco*.
28. *Papi Assunta*, di anni 17. Ammessa il 19 gennaio per febbre reumatica.	19 gennaio 1902. Cultura fatta al momento dell'ammissione.	*Cocco* non resistente al Gram e *pseudo-difterico*.
29. *Scarpa G.*, di mesi 11. Ammesso il 24 ottobre 1901 per enterite.	22 gennaio 1902. Cultura fatta al momento dell'ammissione.	*Stafilococco aureo*, *cocco* non resistente al Gram e *pseudo-difterico*.
30. *Cappellini G.*, di mesi 7, esterno. Coriza e tosse con febbre e lacrimazione, cui seguì broncopolmonite.	5 febbraio 1902. Cultura fatta al momento dell'ammissione.	*Stafilococco albo*, *pseudo-difterico*, *diplococco*.
31. *Cappellini M.*, di anni 4 esterna, con sintomi analoghi al precedente e poi lieve bronchite.	5 febbraio 1902. Cultura fatta al momento dell'ammissione.	*Stafilococco albo* e *pseudo-difterico*.
32. *Del Canto G.*, di anni 7. Ammesso il 7 dicembre 1901 per diabete insipido e congiuntivite cronica scrofolosa. Rimasto nelle infermerie durante l'epidemia interna di morbillo, febbraio-marzo 1902, senza contrarre infezione.	24 febbraio 1902. Cultura da straccetto mucoso preso dal cul di sacco congiuntivale inferiore in agar con sangue di piccione.	1) Molte colonie di *bacillo pseudo-difterico* con qualche colonia di *stafilococco albo*.
	1 marzo 1902. Cultura da straccetto mucoso preso dal cul di sacco congiuntivale inferiore in agar con sangue di piccione.	2) Sviluppo del solo *bacillo pseudo-difterico*.
	11 marzo 1902. Cultura da straccetto mucoso preso dal cul di sacco congiuntivale inferiore in agar con sangue di piccione.	3) Sviluppo del solo *bacillo pseudo-difterico*.
33. *Taddei C.*, d'anni 2. Ammessa il 21 settembre 1902 per sclerosi cerebrale e congiuntivite granulosa.	24 febbraio 1903. Cultura dal muco congiuntivale in agar con sangue di piccione.	*Bacillo pseudo-difterico*, *diplococco e streptococco piogeno*.
34. *Mariani L.*, di anni 5, degente nello Spedale dal 5 agosto 1902 per emiplegia sinistra e congiuntivite granulosa.	1 marzo 1903. Cultura della secrezione lacrimale in agar con sangue di piccione.	*Bacillo pseudo-difterico*, vari *cocchi* e qualche colonia di *diplococco*.

B. — Bacillo emofilo nella secrezione nasale in casi normali.

1. *Gori A.*, di anni 4. Ammesso il dì 8 gennaio 1902 per mixoedema.	8 gennaio 1902. Cultura dal secreto nasale in agar con sangue di piccione.	Colonie varie di *stafilococco, pseudo-difterico*, e *bacillo emofilo*.
2. *Cortegiani F.*, di anni 2 e mezzo. Ammesso il dì 8 gennaio 1902 per enterite e prolasso rettale.	8 gennaio 1902. Cultura dal secreto nasale in agar con sangue di piccione al momento dell'ammissione.	Colonie varie di *stafilococco, pseudo-difterico, grosso batterio* non determinato, *diplococco* e *bacillo emofilo*.
3. *Biffoli L.*, di anni 7. Ammessa il 11 gennaio per tenia solium (vedi n. 26, Tav. IV, A).	11 gennaio 1902. Cultura dal secreto nasale in agar con sangue di piccione al momento dell'ammissione.	Colonie numerose di *stafilococco, diplostreptococco* e qualche colonia di *bacillo emofilo*.
4. *Azzurrini F.*, di anni 2. Esterno. Affetto da laringite ecc. (vedi n. 27, Tav. IV, A).	11 gennaio 1902. Cultura dal secreto nasale in agar con sangue di piccione.	Numerose colonie di *diplostreptococco* miste a *stafilococco*.
5. *Pepi As.*, di anni 12. Esterna. Ammessa temporaneamente nel padiglione sospetti.	19 gennaio 1902. Cultura dal secreto nasale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco, pseudo-difterico* e grosso *batterio* non determinato.
6. *Scarpa G.*, di mesi 11. Ammesso il 24 ottobre 1901 per enterite (vedi n. 29, Tav. IV, A).	22 gennaio 1902. Cultura dal secreto nasale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco aureo, grosso cocco* e *diplococco*.
	28 gennaio 1902. Ripetuta la cultura da secrezione nasale, essendo sopraggiunta la coriza.	*Stafilococco aureo, grosso cocco* e molte colonie di *bacillo emofilo*.
7. *Franceschi D.*, di anni 3. Esterno. Febbre da intossicaz. intestinale.	28 gennaio 1902. Cultura da secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	Grosso *cocco, bacillo lungo e sottile, diplostreptococco*.

8. *Cappellini G.*, di mesi 7. Esterno. Febbre con lacrimazione laringite e poi broncopolmonite (vedi n. 30, Tav. VI, A).	5 febbraio 1902. Cultura da secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo*, *diplostreptococco* e grosso *batterio*.
9. *Cappellini M.*, di anni 4. Esterna. Febbre simile a quella del fratello (vedi n. 31, Tav. IV, A).	5 febbraio 1902. Cultura da secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo*, *pseudo-difterico* e grosso *batterio*.
10. *Pecchioli A.*, di anni 3. Ammessa il 25 gennaio 1902 per rachitismo. Contrae congiuntivite catarrale (vedi n. 16, Tav. cultura dagli occhi, congiuntivite).	3 febbraio 1902. Cultura da secrezione nasale in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo*, *diplostreptococco* e *pseudo-difterico*.

C. — Bacillo emofilo in vari casi di bronchite e broncopolmonite e bronchi normali.

1. *Buzzegoli V.*, di mesi 13. Ammesso il 9 ottobre 1900 per enterocolite. Morto per broncopolmonite il 30 ottobre 1900. Ha contratto congiuntiv. acuta nello Spedale.	Cultura fatta *post-mortem* colla secrezione bronchiale in agar semplice e in agar con sangue umano.	*Stafilococco albo*. grosso *cocco* non determinato, *bacillo emofilo* che nasce soltanto nei tubi con agar sangue.
2. *Cellai B.*, di anni 3 e mezzo. Proveniente dalla Sezione chirurgica perchè colpita da varicella. Successivamente, congiuntiv. acuta, broncopolmonite e morte il 5 novembre 1900.	Cultura in vita dal secreto bronchiale estratto colla puntura, e cultura *post-mortem* dal medesimo, sempre in agar con sangue di piccione.	Dalla cultura fatta in vita, sviluppo del solo *bacillo emofilo*, dalla cultura *post-mortem*, *bacillo emofilo*, *diplococco* e altri microrganismi.
3. *Piccolomini P.*, di mesi 15. Ammesso il 10 ottobre 1900 per rachitismo. Successivamente, congiuntivite, laringite e broncopolmonite per cui muore il 10 novembre 1900.	Cultura in vita del secreto congiuntivale, e cultura *post-mortem* dal secreto bronchiale in agar con sangue di piccione.	Dal secreto congiuntivale *pseudo-difterico* e *bacillo emofilo*, dal secreto bronchiale *bacillo emofilo*, *diplococco* e *stafilococco albo*.
4. *Tempesti A.*, di anni 4. Proveniente dalla Sezione chirurgica perchè colpito da scarlattina. Morto il 28 novembre 1900 per nefrite e broncopolmonite.	Cultura *post-mortem* dell'essudato bronco-polmonare in agar semplice e agar sangue.	Si sviluppano lo *stafilococco aureo* e il *diplococco*.

5. *Lombardi G.*, di anni 6. Ammesso il 24 novembre 1900 per enterocolite. Passata all'isolamento scarlattinosi il 2 dicembre 1900. Morta per nefrite e broncopolmonite.	Cultura *post-mortem* dalla secrezione bronchiale in agar semplice e agar sangue.	*Bacillo difterico*, *diplococco* e grosso *cocco* non determinato.
6. *Naldi A.*, di anni 4. Ammesso il 28 novembre 1900 per varicella, cui segue broncopolmonite. Guarito.	Cultura in vita dell' escreato in agar semplice e agar sangue.	*Cocchi* vari non determinati, *diplostreptococco* e *diplococco*.
7. *Gazzanti P.*, di anni 8. Ammesso il 1° dicembre 1900 per elmintiasi e bronchite catarr. Guarito.	Cultura in vita dell' escreato in agar semplice e agar sangue.	*Stafilococco*, *cocchi* vari, *streptococco*.
8. *Forti U.*, di anni 6. Ammesso il 12 novembre 1900 per bronchite catarrale.	Cultura in vita dell' escreato in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo* e *diplococco*.
9. *Baldini T.*, di anni 8. Ammesso il 22 novembre 1900 per broncopolmonite.	Puntura del focolaio pneumonico più esteso con siringa Tursini e innesto del sangue estratto in agar sangue.	*Stafilococchi albo* e *aureo*.
10. *Moschi M.*, di anni 1. Morta per tubercolosi polmonare e generalizzata il 4 dicem. 1900.	Cultura *post-mortem* dall' essudato polmonare in agar con sangue.	*Stafilococco aureo* e *diplococco*.
11. *Bencini G.*, di anni 8. Ammesso il 18 dicembre 1900 per bronchite catarrale.	Cultura in vita dell' escreato in agar con sangue di piccione.	*Cocchi* vari, *stafilococco aureo*, *diptostreptococco* e grosso *bacillo* non determinato.
12. *Degli Innocenti A.*, di anni 8. Ammessa il 2 gennaio 1901 per tubercolosi polmonare.	Cultura in vita dell' escreato in agar con sangue di piccione.	*Stafilococco albo* e molte colonie di *bacillo emofilo*.
13. *Smeraldi M.*, di anni 3. Ammesso il 14 ottobre 1901 per croup e pertosse operato con tracheotomia e morto poi per broncopolmonite il 20 ottobre 1901.	17 ottobre 1901. Cultura in vita dell' escreato espulso dalla cannula in agar, agar siero e agar sangue.	*Stafilococco aureo* e *bacillo piocianeo*.
14. *Sabatelli F.*, di anni 7. Ammessa il 20 agosto 1901 per tubercolosi polmonare. Morta il 19 novembre 1901.	17 ottobre 1901. Cultura in vita dell' escreato in agar semplice e agar sangue.	*Stafilococco aureo*, *cocco* non determinato, *diplococco* e *bacillo emofilo*.

15. *Matteini R.*, di 16 mesi. Morto per croup difterico e broncopolmonite il 22 ottobre 1901.	23 ottobre 1901. Cultura *post-mortem* dell'escreato polmonare in brodo, agar semplice e agar sangue.	*Diplococco, bacillo di Löffler*, e *bacillo emofilo* (questo soltanto nei tubi con sangue).
16. *Lucchesi P.*, di anni 7. Ammessa il 5 luglio 1901 per bronchiectasia e polmonite indurativa.	24 ott. 1901. Cultura dell'escreato in agar semplice, agar siero e agar sangue.	*Diplococco, streptococco, stafilococco albo* e grosso *cocco* non determinato.
17. *Baggiani B.*, di anni 5. Ammesso il 27 settembre 1901 per pertosse. Guarita.	26 ott 1901. Cultura dell'escreato in agar semplice, agar siero e agar sangue.	*Stafilococco aureo*, grosso *cocco* non determinato, *diplococco* e *bacillo pseudo-difterico*.
18. *Focardi N.*, di mesi 3. Ammesso il 29 ottobre 1901 per gastroenterite acuta, morto il 30 ottobre 1901. L'autopsia non dimostra nessuna lesione bronchiale o polmonare.	31 ottobre 1901. Cultura *post-mortem* da secrezione bronchiale in agar semplice e agar sangue.	*Stafilococco albo* e varie colonie di *bacillo emofilo* (questo soltanto nei tubi con sangue).
19. *Moggi G.*, di anni 4. Ammessa il 25 agosto 1901 per pertosse. Guarita.	29 ott. 1901. Cultura da escreato in agar semplice, agar siero e agar con sangue di piccione.	Grosso *cocco* non resistente al Gram, *diplococco* e dai tubi con agar sangue anche *bacillo emofilo*.
20. *Ragazzini G.*, di anni 6. Ammessa il 30 ottobre 1902 per pertosse. Guarita.	30 ottobre 1901. Cultura in vita dell'escreato in agar semplice, agar siero e agar sangue.	Grosso *cocco* non resistente el Gram, *diplococco, bacillo pseudo-difterico* e *bacillo emofilo* (questo soltanto nei tubi con sangue).
21. *N.....*, neonato. Morto per atelettasia polmonare al 4° giorno di vita nello Spedale della Maternità.	18 novembre 1901. Cultura *post-mortem* dalla secrezione bronchiale in agar sangue.	Si sviluppa il solito *cocco* grosso, non resistente al Gram.
22. *Martelli O.*, di anni 8 ½. Ammesso il 17 febbraio 1902 per difterite laringea. Morto 8 marzo 1902 per broncopolmonite e pleurite doppia.	9 marzo 1902. Cultura *post-mortem* in agar sangue dal sangue del cuore, dal liquido pleurico e dal succo delle ghiandole peribronchiali.	1) Dal sangue del cuore *bacillo difterico, diplococco* e *streptococco*. 2) Dal liquido pleurico *diplococco*. 3) Dal succo ghiandolare *diplococco* e *streptococco*.

23. *Cammilli A.*, di anni 8. Ammesso il 20 maggio 1902 per otite media suppurativa sinistra e broncopolmonite. Morto il 10 giugno 1902.	22 maggio 1902. Cultura in vita dall'escreato in agar sangue. 11 giugno 1902. Ripetuta la cultura *post-mortem* dal muco pus bronchiale.	1) Scarse colonie di *stafilococco albo* e moltissime di *bacillo emofilo*. 2) *Stafilococco*, *diplococco* e *bacillo emofilo*.
24. *Menegazzi G.*, di anni 8. Ammesso il 10 giugno 1902 per sifilide polmonare al periodo ulcerativo.	11 giugno 1902. Cultura in vita dall'escreato in agar sangue.	*Stafilococco aureo*, *cocco* non resistente al Gram e *streptococco*.
25. *Fontanelli U.*, di anni 6. Ammesso il 7 giugno 1902 per polmonite crupale sinistra. Guarito.	8 giugno 1902. Cultura in vita dall'escreato in agar sangue. 4 luglio 1902. Ripetuta la cultura dall'escreato in agar sangue.	1) Grosso *bacillo* non resistente al Gram e *diplococco*. 2) *Stafilococco albo* e *diplococco*.
26. *Pratesi A.*, di anni 3. Ammesso il 16 giugno 1902 per pertosse e bronchite. Guarito.	17 giug. 1902. Cultura dall'escreato in agar sangue.	Grosso *cocco* non resistente al Gram, *micrococcus catarralis* e *diplococco*.
27. *Savini V.*, di anni 6. Ammesso il 3 luglio 1902 per bronchite catarrale. Guarito.	5 luglio 1902. Cultura in vita dall'escreato in agar sangue.	*Stafilococco albo* e *aureo*, grosso *bacillo* non resistente al Gram e *diplococco*.
28. *Belloni G.*, di anni 2. Morto il 4 novembre 1902 per broncopolmonite postdifterica.	5 novembre 1902. Cultura *post-mortem* in agar sangue col succo bronchiale.	*Diplococco* e *streptococco*.
29. *Mazzucconi M.*, di anni 8. Ammesso il 18 ottobre 1902 per pertosse e bronchite. Guarito.	9 nov. 1902. Cultura dall'escreato in agar sangue.	*Diplococco*, *streptococco* e grosso *cocco* non resistente al Gram.
30. *Franceschi R.*, di anni 6 ½. Ammessa il 9 ottobre per angina e croup difterico cui segue broncopolmonite. Morta per nefrite il 12 novembre 1901.	9 novembre 1902. Cultura in vita dell'escreato in agar sangue. 13 novemb. 1902. Cultura *post-mortem* dagli ascessi peribronchiali.	1) *Stafilococco aureo*, *bacillo emofilo* e *diplococco*. 2) *Stafilococco aureo* e *bacillo emofilo*.

31. *Valmori D.*, di anni 2 ½. Ammesso il 2 dicembre 1902 per polmonite crupale sinistra. Guarito.	5 dicembre 1902. Cultura di sangue aereato, estratto dal focolaio pneumonico con siringa Tursini, in agar sangue.	Nasce il solo *diplococco lanceolato.*
32. *Polidori O.*, di anni 2. Ammesso il 28 ottobre 1902. Morto il 12 novembre 1902 per broncopolmonite tubercolare e ascesso pleuro-diaframmatico sinistro.	13 dicembre 1902. Cultura in agar sangue dall'essudato bronchiale e dal pus dell'ascesso.	Da ambedue le culture nasce il *diplococco lanceolato* con qualche colonia di *stafilococco aureo.*
33. *Grazzini N.*, di anni 6. Ammessa il 25 novembre 1902 per pertosse e bronchite catarrale.	26 dic. 1902. Cultura dall'escreato in agar semplice e agar sangue.	*Stafilococco albo*, grosso *cocco* non resistente al Gram e *diplococco.*
34. *Fanfani N.*, di anni 2. Ammessa il 14 novembre 1902 per rachitismo e bronchite, poi broncopolmonite. Guarita il 10 dicembre 1902.	2 dicembre 1902. Estrazione di sangue e mucco dal focolaio broncopneumonico e culture in agar semplice e agar sangue.	Si sviluppa il solo *diplococco lanceolato.*
35. *Galletti I.*, di anni 5. Ammessa il 20 dicembre 1902 per tubercolosi e broncopolmonite bilaterale. Morta il 5 gennaio 1903.	23 dicemb. 1902. Cultura in vita dall'escreato in agar sangue. 31 dicemb. 1902. Ripetute le culture in agar sangue. 6 gennaio 1903. Cultura *post-mortem* da un focolaio pneumonico.	1) *Diplococco, streptococco, cocchi* vari non determinati e *bacillo emofilo.* 2) Risultato identico al precedente. 3) *Streptococco, diplococco* e *bacillo emofilo.*
36. *Tozzi Alberto*, di anni 2 ½. Ammesso il 23 marzo 1902 per croup difterico. Morto il 7 aprile per broncopolmonite con piccoli ascessi peribronchiali e pleurite sierofibrinosa bilaterale.	8 aprile 1902. Cultura *post-mortem* in agar sangue con liquido pleurale e pus degli ascessi.	Tanto dal pus degli ascessini polmonari come dal liquido pleurico nascono il *diplococco* e lo *stafilococco aureo.*
37. *Bini G.*, di anni 5. Ammessa il 21 marzo per noma e broncopolmonite (aveva avuto il morbillo 3 settimane prima). Morta il 7 aprile 1902 con broncopolmonite e pleurite sierofibrinosa bilaterale.	8 aprile 1902. Cultura *post-mortem* in agar sangue del liquido pleurico.	*Diplococco, streptococco* e *stafilococco aureo.*

V. — Morfologia e biologia dei bacilli emofili.

Esposti i risultati delle nostre indagini cliniche batteriologiche dobbiamo ora, prima di venire a conclusioni, accennare alle ricerche che noi abbiamo fatto per lo studio della morfologia e biologia dei vari esemplari di bacilli emofili da noi isolati.

Ripetendo quanto altra volta abbiamo esposto, noi dobbiamo prima di tutto accennare al terreno di coltura che meglio si presta, secondo i nostri studi, allo sviluppo di questo germe.

Il bacillo emofilo, come accenna questo nome che ormai tende a indicarlo con esattezza, richiede l'emoglobina per svilupparsi, la richiede, sia pure in quantità minima, mista agli ordinari terreni alcalini di cultura.

Il sangue, sparso direttamente sulla superficie dell'agar inclinato a becco di flauto, rende molto noioso l'esame delle culture che vi nascono e, nelle culture pure, molto forte la quantità di cultura che nei tentativi di inoculazione si sperde per i numerosi coaguli che si uniscono al poco materiale batterico.

Per ovviare a questo inconveniente noi da vario tempo siamo giunti a preparare un terreno, che consideriamo come l'*optimum;* mescolando poche gocce di sangue di piccione (il più favorevole fra tutti i sangui sperimentati) a varî tubi di brodo leggermente alcalino sterilizzato, noi otteniamo un liquido rosso che stendiamo poi in poca quantità sui tubi di agar inclinati di fresco. Usando di questo sistema noi evitiamo i coaguli sopra accennati, abbiamo sempre pronti tubi con la superficie fresca e umida e non togliamo nulla alla trasparenza del terreno di cultura, tanto che facilissimo ci riesce lo studio delle colonie anche minutissime. Vantaggio poi non trascurabile, con un piccione possiamo insanguinare varie centinaia di tubi di agar, perchè la quantità di sangue necessario è straordinariamente minima.

Su questo terreno noi abbiamo sempre fatte le disseminazioni successive dai vari liquidi del malato, sia direttamente, sia previa diluzione in brodo, secondo il risultato dell'esame microscopico dei vetrini colorati: spessissimo abbiamo eseguite culture di controllo su agar semplice e glicerinato; per un breve periodo di tempo anche parallelamente, e per confronto, su agar senza peptone, preparato secondo il metodo del *Lesage* (¹) ma senza risultati incoraggianti.

L'isolamento del germe da noi cercato ci è riuscito abbastanza facile; quasi sempre, in grazia della pratica acquistata, ci è stato possibile averlo in cultura pura con un solo trapianto dalla cultura prima. Soltanto quando il trapianto in agar semplice dalla cultura pura ottenuta ci restava sterile, continuavamo lo studio del campione così isolato usandolo per prove sperimentali, studiandone la vitalità, la virulenza, ecc.

Il microrganismo da noi isolato è un bacillo che ha per carattere, diremo quasi suo proprio, il polimorfismo: atteso appunto questo polimorfismo, ammesso e riconosciuto anche da altri, noi non crediamo possibile dare descrizioni separate dei campioni ricavati dagli occhi dei malati di congiuntivite acuta, di quelli ricavati dalle varie secrezioni dei morbillosi e di quelli ottenuti dai casi tipici di influenza, perchè sarebbero pure ripetizioni.

Le differenze che taluno ha voluto trovare fra il bacillo di *Koch-Weeks*, quello di *Pfeiffer*, e quello della pseudo-influenza, sono differenze che noi abbiamo potuto ritrovare nelle varie generazioni di uno stesso germe, sia in seguito a passaggi per animali che a successive coltivazioni in terreni solidi o liquidi.

Premesso questo noi possiamo passare alla descrizione particolareggiata dei vari caratteri dei campioni da noi isolati.

Forma. — Certamente il germe da noi isolato è un bacillo, però la sua forma varia assai, specialmente secondo l'età della cultura; nelle culture giovani ha forma tozza, corta, con

(¹) Agar a 1,5 per 100 in brodo semplice fatto con l'infuso di carne a 1 su 2 e alcalinizzato molto debolmente subito.

le due estremità talvolta più colorate della parte centrale da simulare un piccolissimo diplococco; nelle culture più vecchie sono molto più frequenti le forme allungate a filamento. Questa variabilità per l'età però talvolta manca. Varia secondo il terreno; nel brodo sangue o nel liquido di condensazione dei tubi di agar ha più facilmente la forma allungata e ci è stato possibile qualche volta (Tav. II, C, n. 25) vedere filamenti composti di 25–50 articoli ben saldati l'uno all'altro; sulla superfice solida dell'agar, ha la forma di bacillo minutissimo tozzo; nelle culture più vecchie, oltre le 48–72 ore, è frequentissimo vedere molte forme bacillari che non prendono il colore bene come le altre.

Una variazione anche assai forte nella forma si ha di solito quando si esamini il bacillo nel liquido umano od animale dal quale si è coltivato, (pus congiuntivale, pus pleurico o peritoneale di cavia, sangue di coniglio o cavia, ecc.) e le culture ricavate da questi terreni naturali. Una volta (Tav. III, n. 13) ci è stato possibile osservare che in uno stesso animale i bacilli sviluppatisi nell'edema sottocutaneo nel punto dell'inoculazione erano prevalentemente a forma sottile, allungata, filamentosa, mentre quelli presenti nel pus peritoneale della stessa cavia erano quasi tutti a forma tozza quasi di cocco, senza nessun filamento. Si noti poi che le culture ottenute da questi succhi dettero luogo allo sviluppo di bacilli minutissimi e corti.

Motilità. — L'esame in goccia pendente dimostra l'immobilità di questo bacillo il quale presenta lievissimi movimenti di oscillazione, evidentemente movimenti browniani.

Colorabilità. — Si colorano bene con tutti i colori soliti di anilina, benissimo, conservando ben netta la propria forma, con la miscela di 1 di fuxina carbolica (*Ziehl*) e 9 di H^2O secondo il consiglio dello *Pfeiffer;* non resistono alla decolorazione col metodo del *Gram* e del *Weigert.* Quando le culture sono giovani di 18–36 ore, i bacilli prendono tutti bene il colore; quando sono più vecchie è facilissimo trovare insieme a forme ben colorate altre molto pallide e che appariscono per questo anche più sottili.

I tentativi di colorazione di ciglia ci hanno dato risultato negativo.

Non danno spore.

Culture. — Si sviluppano bene alla temperatura del corpo umano, benissimo fra 39° e 40°: muoiono con facilità, specialmente se, tolte le culture dal termostato, sono sottoposte a sbalzi di temperatura e alla luce: culture mantenute nel termostato senza essiccazione dell'agar, ci hanno dato trapianti anche dopo un tempo generalmente lungo, 17 giorni; una sola volta (Tav. II, C, caso 19), con questo metodo, ci è stato possibile ottenere trapianti dopo 1 mese. Abitualmente, dopo i primi due o tre trapianti eseguiti ogni 3 giorni, abbiamo potuto mantenere per dei mesi vive le culture trapiantandole solo ogni 7 giorni.

Crescono bene nei terreni con sangue, sia liquidi che solidi; a noi non è riuscito abituare nessun campione di questi bacilli a svilupparsi su terreni privi di emoglobina, soltanto abbiamo osservato che i trapianti eseguiti su agar semplice e mantenuti nel termostato a 37° davano sviluppo di colonie tipiche, quando anche dopo 3 giorni vi si gocciolava sopra un poco di brodo e sangue. Le culture in brodo dal peritoneo della cavia, con abbondante essudato, ci hanno qualche volta dato un lievissimo intorbidamento dovuto a bacilli minimi: il trapianto da queste culture è stato positivo se eseguito in agar sangue, negativo in tutti gli altri terreni.

Quando la seminagione si eseguisce nelle migliori condizioni, cioè da cultura florida su agar recentemente insanguinato (cioè con la superfice ben umida) e si mantengono i tubi a temperatura fra 38° e 39°, le colonie sono visibili ad occhio nudo anche prima di 12 ore: culture fatte la sera alle 10 sono visibilissime la mattina alle 8.

Le colonie appena appariscono sono come puntolini finissimi trasparenti, sono quasi uguali a quelle del diplococco del *Fräenkel;* però a differenza di queste, se non sono troppo prossime le une alle altre, continuano a svilupparsi per 2 o 3 giorni sino a raggiungere il diametro di 1 $^1/_2$ e 2 millimetri: crescendo perdono la trasparenza che è visibile nelle prime

24 ore e divengono grigiastre, con margini lievemente ondulati, ben sottili, e col procedere del tempo mostrano evidentissima, nella parte centrale, una puntina più opaca e rilevata.

Quando invece sono molto vicine restano, fino a che non si disseccano, simili a quelle del diplococco di *Fräenkel:* se poi sono confluenti, formano una patina lievissima, grigiastra, che qualche volta è tanto sottile da confondersi col lieve strato di sangue deposto sulla superficie del terreno di cultura ed è riconoscibile con sicurezza soltanto per mezzo della colorazione dei vetrini. L'acqua di condensazione, cioè il brodo e sangue che si trova in fondo al tubo, si intorbida sempre.

Coltivato in brodo e sangue nasce bene, intorbida la parte limpida del brodo, aiuta la diffusione dell'emoglobina dal sangue e, quando questa è avvenuta, accelera il cambiamento di colore, da rosso scuro a bruno nerastro, che anche nei tubi sterili si osserva qualche settimana dopo la loro preparazione.

Seminato per strisciamento si sviluppa molto lentamente come un sottilissimo nastrino trasparente che va gradatamente allargandosi verso la parte inferiore del tubo, con margini netti, lievemente ondulati e, nella parte inferiore, alquanto più rilevati della parte centrale. Per infissione in agar misto a sangue nasce come un lieve e piccolo alone intorno al punto dell'infissione, lungo la linea dell'infissione come una sottilissima linea [1].

Un fatto già notato da altri, e che noi non possiamo che confermare, è lo sviluppo rigoglioso che assumono le colonie di questo bacillo, quando sono prossime a colonie di altre forme, specialmente dello staffilococco piogeno aureo: parrebbe quasi che i prodotti del ricambio di queste altre forme ne aiutassero la nutrizione; noi però non possiamo confermare il fatto enunciato da *Jundell* e da altri dello sviluppo di questo bacillo su terreni privi di emoglobina se unito a colonie di

[1] L'agar misto a sangue è quasi del tutto opaco, sicchè soltanto facendo la infissione quasi a contatto della parete del tubo è possibile vedere il risultato culturale.

staffilococco piogeno; in molti casi infatti ci è occorso di vedere, che nei tubi di agar sangue nasceva l'aureo e il bacillo emofilo, mentre nei tubi di agar semplice, seminati per controllo, nasceva soltanto l'aureo senza traccia di colonie del bacillo; se la simbiosi con l'aureo avesse dovuto permettere al bacillo emofilo di svilupparsi anche là dove mancava l'emoglobina questo, ci pare, doveva essere il caso. Una sola volta in via eccezionale noi abbiamo avuto un accenno di sviluppo di minunutissime colonie su di un tubo di agar *Lesage* sul quale avevamo seminato abbondante pus bronchiale (caso 14, Tav. II, C): queste colonie divennero rigogliosissime quando, dopo ventiquattro ore, facemmo passare sulla superficie del tubo brodo e sangue. L'eccezione era forse dovuta al pus bronchiale? in altri casi simili abbiamo avuto risultato negativo.

Noi abbiamo tentato anche di verificare se col *bacillo emofilo* fosse possibile ottenere la reazione agglutinante col metodo del Widal. Limitandoci a studiarla in morbillosi noi abbiamo adoprato il siero di sangue di due malati, uno (Tav. II, D, osserv. 2ª) morto per bronco-polmonite con l'eruzione sempre visibile, l'altro invece guarito (Tav. II, D, osserv. 4ª). La cultura in brodo e sangue esaminata in goccia pendente mostra una certa tendenza dei bacilli a riunirsi più o meno irregolarmente a gruppi nella parte declive della goccia: mescolando nella proporzione di $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$ il siero di questi due ammalati con la cultura in brodo e sangue di 24 ore noi abbiamo riscontrato, in tutti e due indifferentemente, un leggerissimo aumento di questa tendenza in confronto della goccia campione.

Non possiamo considerare queste nostre ricerche come decisive, ma, atteso il risultato ottenuto, crediamo che il bacillo emofilo non vada soggetto a questa reazione agglutinante, almeno di fronte al siero dei morbillosi.

Azione patogena sugli animali.

Passando ora alla parte relativa allo studio dell'azione patogena di questo bacillo emofilo verso i comuni animali di laboratorio, dobbiamo subito dire che ci è stato material-

mente impossibile praticare inoculazioni varie con più di 140 campioni differenti, che a tanti ascendono i risultati culturali positivi da noi ottenuti.

Noi da questi varii campioni ne abbiamo scelti alcuni differenti, sia per tempo (inizio, acme, convalescenza della malattia) sia per malattia (congiuntivite semplice, congiuntivite morbillosa, influenza ecc.) sia per provenienza (occhi, naso, bronchi, sierose) sia per luogo di degenza del malato (Ospedale Meyer, pratica privata, Pisa); con questi noi abbiamo eseguite le inoculazioni bastanti per saggiarne il potere patogeno, non per studiarne nei dettagli l'azione speciale sui differenti animali: di alcuni soltanto abbiamo continuato più profondamente lo studio.

Il bacillo dell'influenza, e in questi ultimi tempi le forme che sono state coltivate da casi di malattie varie specialmente infantili (broncopolmoniti, esantemi ecc.), sono stati sottoposti a ricerche speciali per studiarne l'azione patogena sugli animali. Non tenendo conto che dei risultati positivi e cominciando dallo stesso *Pfeiffer*, abbiamo che in scimmie e conigli egli ottiene fatti di malattia e morte, secondo la quantità di culture inoculata, fatti, con prevalenza di sintomi del sistema nervoso, che spiega come dovuti ad un veleno contenuto nel corpo batterico: a conclusioni uguali, per risultati quasi simili, giungono *Voges e Kruse*, il quale ultimo ottiene anche la formazione di ascesso inoculando il bacillo sotto cute.

Grassberger ottiene la morte della cavia facendo inoculazioni di culture nel peritoneo; la morte avviene in 5ª giornata e l'essudato peritoneale, nonostante la presenza di bacilli, non dà culture: con inoculazioni di quantità scarse, non ha la morte, ma solo segni di malessere transitorio.

Cantani junior riesce a dimostrare, studiando comparativamente culture vive e culture morte, che il bacillo di *Pfeiffer* si moltiplica nel cervello, e che basta l'inoculazione di una emulsione di cervello nel peritoneo del coniglio, per ottenere effetti letali che non si ottengono con dosi forti di cultura.

Meunier usando culture ottenute direttamente dal sangue di forme gravi di influenza infantile con broncopolmonite,

ottiene la morte rapida dei conigli inoculandoli nella vena marginale dell'orecchio, ne ricava i bacilli da tutti i visceri, nei quali può dimostrarne la presenza anche nelle sezioni microscopiche: inoculando direttamente un essudato umano bacillifero (liquido pleurico) ottiene la morte del coniglio in tre giorni, però i visceri restano sterili. Le inoculazioni nella cavia e in altri animali gli danno risultati completamente negativi.

Delius e *Kolle* facendo inoculazioni peritoneali con la dose mortale minima, ottengono la morte della cavia con contratture e ipotermia in 12–48 ore; l'ottengono invece rapidissima, 10 ore, con dosi più forti; in un caso, in un montone, ottengono setticemia.

Elmassian servendosi di culture in brodo e siero (?), e inoculandole nel peritoneo ad una cavia, ottiene la morte dell'animale in 24 ore con essudato peritoneale, pleurico e pericardico purulento, trova bacilli fagocitati, ha culture positive dal sangue del cuore: non ottiene risultati inoculando direttamente l'essudato bacillifero.

Rosenthal, *Kamen*, *Proca* e *Jacobson* usando topi o conigli, ottengono risultati positivi, cioè riescono ad avere una setticemia da bacillo emofilo, inoculandolo insieme con uno streptococco, sia coltivato in simbosi, sia unito al momento dell'inoculazione, sia anche usando cultura morta e in dose non mortale (*Jacobson*) di streptococco.

Slatineano, usando l'artifizio di annullare la chemiotassi positiva iniettando poco prima della cultura nel peritoneo della cavia poco acido lattico (4 gocce in 2 cc. di H^2O), riesce a uccidere l'animale e rialzare la virulenza della cultura, in modo da ottenere risultati uguali con progressiva diminuzione di acido lattico.

Jehle inoculando nel peritoneo di una cavia una cultura, fatta in brodo e sangue di cavallo dai bronchi di un morbilloso, ottiene la morte dell'animale con culture positive dal sangue del cuore e dall'essudato fibrino-purulento del peritoneo.

Perez nei conigli, infettando abrasioni delle mucose ne ha ulcerazioni ed ascessi; iniettando culture in circolo, dopo aver

prodotto fratture nelle ossa o lesioni irritative nelle articolazioni, vi ottiene la localizzazione del germe con reazione nettamente suppurativa.

Mya, *Pacchioni*, *Caccia* con culture provenienti da meningiti ottengono la morte in tempo breve e le culture positive inoculando topi e conigli sotto cute, nel peritoneo e nel canal vertebrale; *Pacchioni*, in più, ottiene nella cavia, con la inoculazione sotto cute, formazione d'ascessi.

Da questo rapido riassunto di quello che hanno fatto i principali autori, apparisce chiaramente che il *bacillo emòfilo*, sia che esso provenga da casi di vera influenza, sia da casi certamente non di influenza, può avere per gli animali un'azione patogena; taluni animali muoiono, altri no, ma generalmente il coniglio, la cavia e il topolino sono quelli che più si sono dimostrati sensibili.

I nostri tentativi per produrre uno stato patologico negli animali con questo bacillo risalgono ai primi tempi delle nostre ricerche sulle congiuntiviti contagiose interne dell'ospedalino Meyer, prima del suo rinnuovamento.

In quell'epoca, 1898, non usavamo come terreno di cultura l'agar insanguinato, ma solo agar semplice o misto a liquido ascitico, a nutrose, a siero di maiale, ecc., e non potevamo ottenere culture del bacillo che il microscopio ci svelava quasi costantemente nelle secrezioni congiuntivali; per questo noi abbiamo più volte tentato di riprodurre congiuntiviti nei conigli, inoculando loro nel sacco congiuntivale direttamente la secrezione tolta dagli occhi dei bambini.

Queste inoculazioni ci hanno dato sempre risultato negativo, nonostante che da noi si producesse, o meccanicamente, o chimicamente, l'irritazione della congiuntiva prima di inocularvi il materiale bacillifero.

Dopo che noi cominciammo ad ottenere in cultura il bacillo emofilo ne provammo l'azione patogena, prendendolo da malattie diverse, su differenti animali. Le nostre esperienze devono però essere divise in due grandi serie, limite fra le quali è l'impiego, come mezzo di cultura, dell'agar col sangue non puro ma misto a brodo: quando usavamo di sten-

dere direttamente il sangue di uomo, cavia, o piccione nell'agar, inoculando culture di congiuntiviti acute, congiuntiviti e bronchiti morbillose, nella cavia, sottocute e nel peritoneo, nel coniglio e nel topolino nel peritoneo, nello storno, nel cavo toraco addominale, e nel piccione nella vena dell'ala, abbiamo avuto sempre risultati negativi.

Con le culture fatte secondo il nostro ultimo metodo abbiamo ottenuti risultati anche negativi, ma molti più positivi: questo fatto che dimostra come un minimo particolare di tecnica influisca sui risultati delle esperienze, spiega facilmente le differenze sperimentali da tanti autori riscontrate.

Nelle inoculazioni noi abbiamo usato come dose abituale due tubi di cultura di 48 ore iniettandola nel peritoneo di una cavia di gr. 230–280, avendo visto che questa era la dose che più facilmente ci dava risultati positivi con setticemia bacillare; abbiamo però eseguite esperienze in altri animali e con altri metodi, con culture su agar e in brodo, con culture vive e morte e con culture filtrate, affinchè dallo studio biologico dei bacilli isolati nei vari casi, ci fosse possibile determinare se essi rappresentassero una specie unica, ovvero specie o varietà differenti.

Noi ora riferiremo brevemente i risultati delle inoculazioni aggruppando insieme i casi dai quali abbiamo tratti i campioni secondo la divisione clinica e le tavole esposte.

Inoculazioni con bacilli provenienti da congiuntiviti semplici.

(Tavola I).

Caso 17. — Inoculazione di due culture su agar di 48 ore nel peritoneo di una cavia di circa 250 gr.; morte della cavia in 3 giorni; esame microscopico e culture positive dal peritoneo; bacilli presenti nell' essudato assai scarsi.

Caso 18. — Inoculazione come sopra; la cavia non reagisce nemmeno con malessere; dopo un mese è cresciuta assai di peso.

Caso 19. — Inoculate due cavie come sopra; morta una in 48 ore con peritoneo normale e risultato culturale e mi-

croscopico negativo sia dal peritoneo che dal sangue del cuore: morta l'altra in poco più di 36 ore con scarso essudato peritoneale formato da cellule della sierosa desquamate e polinucleati; nessun bacillo nè nel peritoneo nè nel sangue.

INOCULAZIONI CON BACILLI PROVENIENTI DA CONGIUNTIVE DI MORBILLOSI.

(Tavola II, A).

Caso 28. — Inoculazione ad una scimmia cappuccina di una abbondante quantità di cultura tenuta con batufoli di cotone nel naso, gocciolata in faringe e nelle congiuntive, previa vigorosa confricazione per irritare. Risultato completamente negativo; dopo due ore non esiste più nemmeno l'arrossamento delle congiuntive.

Caso 37. — Inoculazione di una cultura nella vena dell'orecchio a un coniglio e una sottocute ad un altro; risultato completamente negativo.

Inoculazione di tubi 1 $^1/_2$ di cultura a 3 cavie nel peritoneo, a due seguendo il metodo dello *Slatineano* con l'acido lattico, a una senza acido lattico per controllo; questa resta sana, delle altre due una muore in 72 ore con abbondanti bacilli ricoltivabili dal peritoneo e dal sangue, l'altra muore in 8 giorni con culture e vetrini completamente negativi.

Caso 38. — Inoculazione a un coniglio di poche gocce di cultura sotto la dura madre; abbattimento transitorio del coniglio con temperatura sopra a 42°; dopo 5 giorni l'animale, che è ben portante, viene ucciso e si praticano, con risultato affatto negativo, culture dal liquido cefalo-rachideo, dal cervello e dal sangue.

Caso 45. — Inoculazione con cultura recente (2° trapianto) nelle congiuntive, naso e faringe di una scimmia Sajou, previa irritazione meccanica; starnuto per 24 ore e rialzo termico di un grado e $^2/_{10}$ (da 37,4 a un massimo di 38,6 dopo 24 ore); dopo 4 giorni tutto torna al normale. Le culture fatte dalle mucose oculari e nasale dopo 24 ore rimasero negative.

Caso 58. — Inoculazione di due tubi di cultura di 48 ore nel peritoneo a una cavia; risultato completamente negativo.

Caso 63. — Inoculazione come sopra di cultura di 24 ore: la cavia muore in 3 giorni con scarso essudato nel peritoneo e bacilli ricoltivati dal sangue del cuore e dal succo peritoneale.

Caso 64. — Inoculazione come sopra con cultura di 48 ore: la cavia muore in 20 ore con essudato emorragico nel peritoneo e nel pericardio: bacilli abbondantissimi ricoltivati dagli essudati e dal sangue. Inoculazioni successive dànno risultato positivo.

Caso 65. — Inoculazione a due cavie come sopra, a una 2 tubi, all'altra 1 $^1/_2$. Dopo 20 ore muore la cavia prima con essudato nel peritoneo e bacilli nel pus e nel sangue: l'altra vive. Inoculazioni successive col bacillo ricavato da questa prima cavia in egual dose dànno risultati negativi.

Inoculazioni con bacilli provenienti da secrezione nasale di morbillosi. — (Tavola II, B).

Caso 9. — Inoculazione di due tubi di cultura di 48 ore nel peritoneo di una cavia con morte dell'animale dopo 24 ore, essudato nel peritoneo, sviluppo abbondante del bacillo dal peritoneo e dal sangue del cuore.

Idem. — Inoculazione ad una scimmia cappuccina nel naso e negli occhi con frizioni di batufoli di cotone inzuppato nella cultura e direttamente in trachea di $^1/_{10}$ di cultura. Nell'animale si osserva un rialzo termico (che persiste per un mese) da 38.2, temperatura media dei giorni precedenti, a 38.9, 39.2: le culture fatte dal naso e occhi in 3ª giornata, e direttamente per puntura dal polmone in 7ª, restano sterili. L'animale sacrificato dopo più di 45 giorni non presenta affatto alterazioni.

Inoculazione con bacilli provenienti da secrezione bronchiale e da succo polmonare di morbillosi. — (Tavola II, C).

Caso 14. — Inoculazione di 1 tubo di cultura nella vena marginale dell'orecchio ad un coniglio. L'animale non dà segni di sofferenza; le culture praticate direttamente dal sangue dopo 48 ore restano sterili; l'animale vive.

Caso 16. — Inoculate due cavie nel peritoneo con 1 tubo e $^1/_2$ ciascuna. Una cavia muore dopo 18 ore con essudato nel peritoneo, bacilli abbondanti nel peritoneo e nel sangue. Inoculazioni successive con le culture riottenute da questa prima cavia danno risultati positivi.

Le inoculazioni eseguite in numero notevole col succo peritoneale bacillifero o col sangue del cuore hanno dato questi risultati: il succo peritoneale nella dose di 1 goccia ($^1/_{20}$ di cc.) nel peritoneo è inoffensivo; 2 gocce ($^1/_{10}$ di cc.) uccidono, o rapidamente in 24 ore con presenza dei bacilli nel pus peritoneale e nel sangue, o lentamente 16–17 giorni con dimagramento dell'animale e culture sterili; inoculato sotto cute forma ascesso se in dose rilevante ($^1/_2$–1 cc.) e i bacilli possono essere ricavati dal pus denso anche 7 giorni dopo; se invece viene inoculato a dose piccola $^1/_{10}$ $^1/_{20}$ di cc. passa quasi inosservato.

L'inoculazione di sangue del cuore $^1/_{10}$, $^1/_5$ di cc. nel peritoneo passa inosservato.

Caso 17. — Inoculazione di due tubi di cultura di 48 ore nel peritoneo di una cavia con risultato positivo simile ai casi precedenti.

Caso 26. — Inoculazione di due tubi di cultura di 48 ore nel peritoneo di una cavia: la cavia dimagra, muore dopo 20 giorni con punteggiature emorragiche nei visceri, senza che le culture e i vetrini mostrino la presenza di bacilli sia nel sangue che nel peritoneo.

Inoculazioni con bacilli provenienti dal pus pleurico.

(Tavola II, C).

Caso 19. — Inoculazione nel peritoneo di una cavia di tubi 1 $^1/_2$ di cultura di 48 ore. La cavia muore col solito reperto di peritonite e presenza del bacillo nel sangue. Le inoculazioni successive a cavie della cultura ottenuta da questa, danno nelle stesse dosi risultati uguali.

Inoculazione ad un coniglio nella vena dell'orecchio di $^1/_4$ di cc. di essudato peritoneale di cavia bacillifero.

Morte del coniglio in 5 ore con ipotermia (32.5), fatti convulsivi, paresi degli arti posteriori. Ricavasi il bacillo in cultura pura dal sangue e dai visceri.

Inoculazione di 1 tubo di cultura dal sangue del coniglio precedente nella vena marginale di un secondo coniglio con risultato completamente negativo.

Caso 25. — Inoculazione a due cavie nel peritoneo, secondo il solito sistema, con morte delle cavie in 16 ore con essudato purulento nel peritoneo, sieroso nelle pleure e pericardio: il bacillo vien ricoltivato dagli essudati e dal sangue.

Inoculazione sotto cute ad una cavia di $^1/_8$ di cultura su agar sangue, senza formazione di ascesso ma con morte della cavia in 48 ore con fatti di ipostasi polmonare; culture sterili tanto dai visceri che dal sangue [1].

Inoculazione a due topi nel peritoneo di $^1/_{10}$ di cultura su agar sangue: risultato completamente negativo.

Inoculazioni di 1-2 tubi di 48 ore nella vena dell'orecchio di 5 conigli danno sempre la morte in un tempo variabile da 14 $^1/_2$ ore a 18 con tumefazione notevole di tutti gli apparati linfatici, distensione ed emorragie puntiformi nel cieco e appendice, con presenza del bacillo, sia dimostrabile con le culture come con le colorazioni delle sezioni, in tutti i visceri.

La morte avviene con fatti convulsivi e paresi degli arti posteriori, ipotermia, insensibilità della pupilla.

L'inoculazione di 1 tubo di cultura nella trachea a due conigli dà affanno per circa un'ora, poi niente altro.

L'inoculazione nella vena del coniglio di una dose forte, 2 cc. di cultura in brodo di 24 ore, dà morte con fenomeni bulbari quasi improvvisa in tre ore.

Inoculato un cane barbone bastardo di kg. 5.400 con 3 tubi di 16 ore nella vena della gamba previa lieve narcosi con etere, il cane dopo due ore accenna a sofferenze, ha una scarica diarroica con sangue, muore dopo 5 ore, continuando nelle scariche diarroiche sanguinolente ed ematemesi. All-

[1] Questa cavia è morta probabilmente per causa indipendente dall'esperimento.

necroscopia si trova una punteggiatura emorragica estesa nel tubo gastro-enterico, reni e milza iperemici, fegato con chiazze di degenerazione. L'esame microscopico e le culture mostrano la scomparsa assoluta del bacillo iniettato, sia dal sangue che dai visceri, milza, fegato, contenuto intestinale, cervello, midollo osseo.

Inoculazioni con bacilli provenienti dal pus meningeo.

(Tavola II, C).

Caso 25. — Inoculazione a due topini nel peritoneo di 3 gocce di pus tratto direttamente dalla meninge e disciolto in brodo con risultato completamente negativo (vivono dopo 15 giorni).

Inoculazione di 1-2 tubi di 48 ore nel peritoneo di varie cavie con risultato sempre positivo; morte in 20-24 ore, presenza del bacillo nel sangue e negli essudati.

L'inoculazione di 1 tubo di cultura sottocute a due cavie, una di gr. 230, una di gr. 500, dà luogo ad un ascesso circoscritto e dolente.

L'inoculazione sotto cute al coniglio di un tubo dà luogo alla formazione di un ascesso con esito negativo delle culture dopo 12 giorni.

L'inoculazione di 1 cc. di densa emulsione di pus meningeo nella vena marginale del coniglio, dà risultato negativo.

L'inoculazione di 1-2 tubi di cultura nella vena del coniglio dà risultati identici a quelli ottenuti col bacillo ricavato dalla pleura. (Vedi pag. 556).

L'inoculazione di $^1/_4$ di ansa di cultura densa su agar nello speco vertebrale di un coniglio non dà risultato alcuno (lo stesso coniglio muore in 20 ore inoculato dopo 10 giorni con un tubo di cultura nella vena dell'orecchio).

L'inoculazione di 1 tubo nello speco vertebrale di altro coniglio dà la morte senza alcun sintomo del sistema nervoso dopo 5 $^1/_2$ ore di apparente benessere. Le culture sono positive dal liquido cefalo-rachideo, dal cervello e dal sangue.

Inoculazioni fatte direttamente col sangue dei morbillosi.

(Tavola II, D).

Caso 8. — Circa $^1/_2$ cc. di sangue appena estratto dalla vena del braccio, misto a brodo e non defibrinato, viene inoculato nella vena dell' orecchio del coniglio. Il coniglio muore dopo 2 giorni e le culture, fatte dal lieve edema dell' orecchio e dal sangue, restano sterili tanto in agar semplice che in agar con sangue di piccione.

Caso 9. — Inoculazione come sopra, sottocute, a un coniglio: dopo 48 ore inciso il punto dell' iniezione si fanno culture che restano sterili; il coniglio vive.

Caso 10. — Esperimento e risultato identici al N. 9.

Caso 15. — Inoculazione nella vena dell' orecchio a un coniglio di $^1/_2$ cc. di sangue tenuto nel termostato secondo il metodo *Bruschettini:* il coniglio non è sofferente: le culture eseguite dal sangue della giugulare dopo 2 giorni restano sterili. Il coniglio vive.

Inoculazioni con bacilli provenienti da casi di influenza tipica.

(Tavola III).

Caso 2. — Inoculata una cavia piccola (gr. 220) con due tubi di 48 ore ottenuti in cultura pura dalla puntura del focolaio bronco pneumonico: la cavia muore in 3ª giornata con scarso essudato nel peritoneo. Le culture sono sterili dal peritoneo e dal cuore.

Caso 3. — Inoculata una cavia con due tubi di cultura pura di 48 ore ottenuta dall' escreato: la cavia muore in 4 giorni con risultato uguale al precedente.

Caso 12. — Inoculata con due tubi di 48 ore di cultura pura proveniente dall' escreato una cavia nel peritoneo: morto l' animale in 4ª giornata con peritoneo arrossato, essudato filante. Le culture dànno esito positivo per il sangue del cuore e l' essudato peritoneale; l' esame microscopico dimostra nel peritoneo moltissimi bacilli fagocitati, pochi liberi.

Caso 13. — Inoculata come sopra una cavia; morta in 24 ore con edema circoscritto al punto dell'iniezione ed essudato nel peritoneo. Tanto l'esame microscopico che le culture dànno risultato negativo per il sangue, l'essudato peritoneale e l'edema sottocutaneo.

Caso 17. — Inoculata come sopra una cavia; morta in 5 giorni assai dimagrata, con arrossamento del grande omento, poco essudato sieroso con scarsi corpuscoli polinucleati nel peritoneo; culture ed esame microscopico negativi per il peritoneo e per il sangue del cuore.

Abbiamo fatte inoculazioni anche con culture del bacillo di *Pfeiffer* proveniente dal laboratorio di *Kràl* a Praga, al quale, come abbiamo saputo in seguito, era stato inviato da *Cantani* di Napoli.

Inoculato con due tubi di cultura di 3 giorni una cavia nel peritoneo, muore in 24 ore con essudato torbido nel peritoneo dal quale e dal sangue rinasce il bacillo in cultura abbondante e pura.

Si inocula $^1/_{10}$ di cc. dell'essudato peritoneale ricchissimo di bacilli nel peritoneo di un'altra cavia senza risultato.

Ad un coniglio si inocula nella vena marginale 1 tubo di 48 ore senza risultato.

Inoculazioni con bacilli provenienti da individui affetti da malattie varie.

(Tavola IV, C).

Caso 30. — Inoculazione di 2 tubi di cultura di 48 ore, proveniente da pus bronchiale coltivato *post mortem*, nel peritoneo di una cavia: morte della cavia in 40–42 ore con essudato fibrino-purulento nel peritoneo e con culture e esame microscopico positivo tanto per il sangue come per il pus peritoneale.

Caso 35. — Inoculazione come sopra con cultura proveniente dall'escreato: la cavia muore in 17 ore con risultato identico al precedente.

*
* *

Oltre a queste inoculazioni praticate con culture vive e in condizioni sperimentali poco variate, sia per la quantità della cultura che per le modalità dell'esperimento, noi abbiamo voluto saggiare anche la tossicità delle culture contenenti sempre i corpi batterici, o private dei medesimi, e dei liquidi bacilliferi.

Per prima cosa prendendo due tubi di cultura di 48 ore del pus pleurico (caso 25, Tav. II, C) noi gli abbiamo uccisi con 12 ore di vapori di cloroformio; fatto poi evaporare il cloroformio nel termostato a 37° per 1 ora, noi abbiamo inoculate ambedue le culture (1) nella vena marginale ad un coniglio; un coniglio controllo riceveva 1 solo tubo vivo della medesima cultura: mentre questo moriva in 16 ore coi soliti fenomeni e reperti, l'altro è sopravvissuto.

Filtrata una cultura in brodo e sangue per candela di terra porosa, noi abbiamo inoculati in una volta 3 cc. di questo filtrato nella circolazione di un coniglio senza risultato: il coniglio controllo che riceveva 2 cc. della medesima cultura non filtrata moriva in 3 ore.

Le inoculazioni ripetute a giorni alterni di 2 cc. di questa cultura filtrata hanno provocato, nel coniglio, un'albuminuria transitoria che durava per le 24 ore dopo l'iniezione venosa; un coniglio lasciato a sè dopo un mese di inoculazioni si è completamente ristabilito, un altro ucciso dopo un mese ha dimostrate lievi lesioni renali ed epatiche.

Avendo visto che anche l'essudato peritoneale bacillifero della cavia dava risultati positivi anche in dose debole, noi abbiamo voluto studiarne l'azione tossica. Conservato all'oscuro e in tubi sterili chiusi alla lampada, questo essudato ci ha mantenuto per tre settimane vivi e virulenti i bacilli: l'iniezione nel peritoneo di una cavia di meno di $^1/_4$ di cc. ha data la morte coi soliti reperti, come pure ha ucciso il coniglio inoculato nella vena marginale: se di questo stesso

(1) I trapianti da queste culture sono rimasti sterili.

essudato si inocula anche una dose tripla e quadrupla, dopo 3-4 mesi dalla estrazione dalla cavia, quando cioè le culture lo mostrano certamente sterile, non si ha resultato alcuno.

*
* *

Riassumendo, noi abbiamo veduto che i bacilli ricavati da *congiuntiviti contagiose semplici* ci hanno dati:

1 cavia morta in 3 giorni con permanenza del germe nella cavità iniettata senza generalizzazione nel sangue;

2 cavie morte con completa scomparsa dei bacilli dal luogo dell'iniezione;

1 cavia sopravvissuta.

I bacilli ricavati dai *morbillosi* ci hanno dato secondo la provenienza.

a) per la congiuntiva:

in 2 scimmie risultato negativo per inoculazioni nelle mucose;
in 3 conigli risultato negativo per inoculazioni varie;
in 3 cavie risultato negativo per inoculazione peritoneale;
in 1 cavia morte senza presenza dei bacilli nel luogo dell'iniezione;
in 4 cavie (una delle quali trattata col metodo Slatineano) morte con generalizzazione dei bacilli.

b) per la mucosa nasale:

in 1 scimmia risultato negativo;
in 1 cavia morte con generalizzazione del bacillo.

c) per la mucosa bronchiale e succo polmonare:

in 1 coniglio risultato negativo per inoculazione in circolo;
in 1 cavia morte in 20 giorni con scomparsa assoluta dei bacilli;
in 2 cavie morte con generalizzazione del bacillo.

d) per la pleura:

in 2 cavie (contandone una sola per caso) morte con generalizzazione del bacillo nel sangue;
in *varii* conigli (5) morte con generalizzazione del bacillo in seguito a inoculazione endovenosa;
in altri conigli (2) risultato negativo per inoculazioni dirette in trachea;

in 1 cane morte in 16 ore per inoculazione endovenosa con scomparsa assoluta dei bacilli dal circolo e dagli organi;
in due topini risultato negativo per inoculazioni endoperitoneali.

e) per il pus meningeo:

in *molte* cavie morte con generalizzazione del bacillo;
in 2 cavie e 1 coniglio formazione d'ascesso per inoculazione sotto cute;
in *varii* conigli morte con generalizzazione per inoculazione endovenosa;
in 2 conigli per inoculazione nello speco vertebrale, morte con generalizzazione in uno trattato con dose forte, risultato negativo nell'altro trattato con dose debole.

I bacilli ricavati da casi tipici di *influenza* ci hanno dato:
in 1 cavia morte in 4ª giornata con presenza dei bacilli nel sangue e nel peritoneo (in questo scarsi e in gran parte fagocitati);
in 4 cavie morte in tempo relativamente lungo con assoluta scomparsa dei bacilli inoculati.

I bacilli ricavati da individui affetti da *malattie varie* ci hanno dato: in 2 cavie morte con generalizzazione dei bacilli.

Riducendo tutto questo a cifre noi vediamo che, per quello che riguarda l'inoculazione peritoneale nelle cavie, da noi considerata esperimento tipo, abbiamo che le cavie inoculate sono 25 (1).

Riassumendo, di queste, 13 sono morte con setticemia bacillare, 7 sono morte senza setticemia, le rimanenti 5 sono vissute. Osservando poi che di queste 25 inoculazioni, alcune sono state fatte con germi provenienti dallo stesso caso e dalla stessa secrezione, noi troviamo che su 22 campioni di bacillo emofilo ricavato da localizzazioni differenti, 3 soli sono risultati assolutamente incapaci di uccidere la cavia, mentre 19 l'hanno uccisa, 13 con setticemia, 6 senza.

Dividendo queste cifre secondo la provenienza dei bacilli, noi abbiamo la seguente tavola:

(1) Non teniamo conto che dei campioni tratti direttamente dal malato senza occuparci dei passaggi per animali.

Bacilli provenienti da	Cavie uccise		Cavie vive
	con setticemia	senza setticemia	
Malati di congiuntivite acuta	1	1	1
» di morbillo	9	1	2
» di influenza	1	4	0
» di altre malattie	2	0	0
Totale	13	6	3

Ammettendo ora che la morte delle cavie senza setticemia bacillare sia dovuta soltanto a fatti tossici, mentre che la generalizzazione dei bacilli sia conseguenza di vera e propria azione infettiva, noi vediamo che dalle cifre di questa tavola chiaramente risulta come il massimo di virulenza l'abbiano i germi provenienti da morbillosi e il massimo di tossicità quelli provenienti dall'influenza.

È questo un carattere differenziale bastante per farci dire che i bacilli provenienti da queste differenti malattie appartengono a specie differenti, o almeno, a varietà ben distinte della stessa specie?

Noi crediamo di no, perchè ammettiamo che possa spiegarsi con una maggior virulenza che in questo ultimo periodo di epidemia morbillosa (Primavera 1902) aveva questo germe, tanto che, come faceva notare il prof. *Mya*, ha dato in questo tempo un numero straordinariamente grande di complicanze nei morbillosi.

Noi dobbiamo dunque sempre più convincerci che differenze sostanziali tali da farci ammettere, secondo le provenienze, varietà distinte di una specie sola, non esistono, e che per conseguenza il *bacillo emofilo* perde sempre più la probabilità di essere l'agente specifico dell'influenza.

Dai risultati sperimentali ottenuti sulle cavie e sugli altri animali, noi possiamo trarre anche qualche argomento per

contribuire a dilucidare la questione se il bacillo di *Pfeiffer* agisca solo per la sua potenza tossica, o se pure abbia anche azione nettamente infettiva moltiplicandosi nel sangue e dando setticemia.

Evidentemente la potenza tossica che questo bacillo mostra verso qualche animale è notevole; nel cane ad esempio (pag. 556) ha dimostrato una forte tossicità perchè lo ha ucciso in dose non eccessiva, se si consideri che abbiamo impiegato 3 tubi di cultura per 5,400 chili di animale, mentre talvolta 1 tubo e 1 tubo e $^1/_2$ per un coniglio di Kgr. 1-1,200 son rimasti inattivi. Però se in questo e in qualche altro caso la morte è avvenuta soltanto per fatti tossici, è innegabile che le setticemie tanto frequenti nella cavia, la setticemia nel coniglio, anche per inoculazione sottodurale di una dose piccola, non possono esser manifestazioni soltanto di tossicità, ma richiedono per prodursi che il *bacillo emofilo* inoculato nel sangue vi possa vivere e vi si moltiplichi fino ad uccidere l'animale.

Per questo scopo noi abbiamo anche ricercato se i bacilli, inoculati in circolo, restavano liberi sempre nel sangue o se si fermavano nei vari organi per moltiplicarsi e tornar poi a circolare al momento della morte dell'animale: iniettando una dose sperimentata mortale di cultura nella vena marginale di un orecchio in un coniglio, noi abbiamo dall'altro prelevati campioni di sangue a intervalli regolari e ne abbiamo seminato su tubi una quantità sempre approssimativamente uguale; questa esperienza ripetuta due volte, ci ha data sempre la presenza, in tutti gli esami, del bacillo circolante dal momento dell'iniezione a quello della morte.

La questione resta però tutt'ora insoluta, soltanto ricerche sistematiche con culture di virulenza fissa e coi nucleoproteidi, potranno risolverla completamente.

VI. — Conclusioni.

Volendo ora riassumere i principali risultati, da noi ottenuti coll'esame batteriologico, rispetto alla presenza del bacillo *emofilo* sulle varie mucose e su qualche sierosa, anc

perchè si veda a colpo d'occhio il rapporto fra le percentuali delle diverse malattie, riportiamo complessivamente le cifre dei reperti positivi del *bacillo emofilo*, messi in confronto col numero dei casi studiati.

		Numero dei casi	Reperto del bacillo emofilo	Percentuale
	1° Congiuntivite catarrale acuta.	20	18	90 %
Mucosa congiuntivale	2° Morbillo.....	65	49	83 %
	3° Influenza.....	3	2	66 %
	4° Congiuntiva sana in individui affetti da malattie varie...	34	2	5,8 %
	5° Congiuntivite granulosa.....	3	0	0 %
Mucosa nasale	1° Morbillo.....	21	17	80 %
	2° Influenza.....	2	2	100 %
	3° Mucosa nasale sana in individui affetti da malattie varie. (1)	11	4	36,3 %
Mucosa bronchiale	1° Morbillo.....	22	20	91 %
	2° Influenza.....	15	12	80 %
	3° Bronchiti e broncopolmoniti primitive o secondarie e altre infezioni, e bronchi normali.....	37	12	32,4 %
Essudato pleurico o pericardico o meningeo	1° Morbillo.....	8	7	87,5 %
	2° Pleuriti acute non morbillose.	4	0	0 %

E però fondandoci su questi risultati e sui pochi studi sinora noti di altri autori, e per le ragioni ampiamente svolte ad ogni singolo capitolo di questo lavoro, noi possiamo enunciare le seguenti conclusioni:

1° Durante le epidemie del morbillo, come in quelle dell'influenza, si osservano, specialmente in luoghi di agglome-

(1) Il *Liebscher* in 90 casi 6, cioè 6,6 %.

ramento degli ammalati, frequenti casi di *congiuntivite epidemica acuta da bacillo emofilo* in individui che hanno avuto contatto diretto o indiretto coi malati di morbillo o d'influenza.

2° Nel *morbillo* come nell'*influenza*, l'esame batteriologico di quelle mucose, il cui catarro acuto costituisce una delle manifestazioni più caratteristiche e costanti della malattia, cioè delle mucose oculare, nasale e bronchiale, dimostra che il microrganismo più frequente, spesso prevalente sugli altri e talvolta unico, è un *bacillo emofilo*.

3° Nel *morbillo* grave come nell'*influenza*, si possono osservare sierositi (pleurite, pericardite, meningite) sierofibrinose o purulente, il cui elemento batterico unico o associato è un *bacillo emofilo*.

4° Il *bacillo emofilo* figura anche spesso, ma con frequenza di $^2/_3$ minore che nel morbillo e nell'influenza, nella batteriologia di *bronchiti e broncopolmoniti infantili primitive o secondarie* ad altre *malattie infettive* (varicella, pertosse, difterite, ecc.).

5° Il *bacillo emofilo* si trova allo stato saprofitico eccezionalmente nelle congiuntive normali, assai di rado nella muccosa nasale; il suo saprofitismo sulla muccosa bronchiale sana è possibile, ma non ancora dimostrato da un numero sufficiente di osservazioni.

6° Per ora non si sono trovati caratteri morfologici e biologici differenziali fra i diversi *bacilli emofili* del morbillo, dell'influenza, della congiuntivite acuta e delle mucose normali; sperimentalmente risulta soltanto che il bacillo emofilo isolato dalle varie mucose dei morbillosi può avere un grado di virulenza maggiore degli altri; quello dell'influenza una tossicità più marcata (almeno per la cavia), e che quello della congiuntivite acuta, è il meno patogeno.

Però la setticemia bacillare ottenuta da *Meunier* nei conigli con germi provenienti da casi gravi d'influenza infantile (vedi pag. 549) sembra dimostrare una virulenza forte anche in bacilli emofili non provenienti da morbillo.

Bibliografia.

ALBRECHT u. GHON, Ein Beitrag zur Kenntniss der Morphologie und Pathologie der Influenzabacillen. (Zeitsch. f. Heilkunde, 1901).

AXENFELD, Koch Weeks und Müller Bacillus. Ergebhisse der Algemeine Pathologie des Auges.

BACH u. NEUMANN, Bacteriologische, klinische und experimentelle, etc. (Archiv fur Augenheilk., Vol. 37; riferito in Jaresbericht di Baumgarten).

BÉCO, La bacteriologie du poumon. (Ann. de la Soc. méd. chir. de Liege, 1901; riferito in Centralblatt f. Bakteriologie, Vol. XXXIII).

CAOCIA G., Un caso di meningite cerebro-spinale da batterio emofilo di Pfeiffer. Rivista di Clinica Pediatrica, Vol. I, n. 2, 1903; (contiene abbondante bibliografia relativa alle meningiti da bacillo del Pfeiffer).

CANON u. PIELICKE, Ueber einen Bacillus im Blute von Masernkranken. (Berliner Klin. Wochensch., 1892, No. 16).

CANTANI A., Ueber Wachstum der Influenzabacillen auf hämoglobinfreien Nährböden. (Zeitschr. f. Hygien und Inf., Bd. XXXVI).

—— Wirkung der Influenzabacillen auf das Centralnervensystem. (Zeitsch. für Hygiene, 1896).

CZAJKOWSKI, Ueber die Mikroorganismen der Masern. (Centralbl. f. Bakteriologie etc., Bd. XVIII, 1895).

DUDZINSKI, Bakteriologische Untersuchungen des Bindehautsackes beim Trachom. (Riferito in Centralblatt für Bakteriologie, etc., Bd. XXX).

ELMASSIAN, Note sur un bacille des voies réspiratoires et ses rapports avec le bacille de Pfeiffer. (Annales de l'Institut Pasteur, 1899).

FRAENKEL E., Beiträge zur Aetiologie der Nasennebenhölenerkrankungen. (Virchow's Archiv, Bd. 143).

—— Beiträge zur Lehre von den Erkrankungen des Centralnervensystems etc. (Zeitschr. f. Hygiene und Infectionkr., Bd. XXVII).

FEDERN, Ueber Influenza. (Wien. med. Wochensch., 1901).

FITZ, A series of cases illustration etc. (Boston med. and surgeon Journal, 1901; rif. in Centralbl. f. Bakteriologie etc., Bd. XXXI).

GASPARRINI, Batteriologia delle congiuntiviti acute. (Annali di Oftalmologia, Vol. XXV).

GELPKE, Bacterium septatum und denen Beziehungen etc. (Rif. in Jahresbericht di Baumgarten, 1898).

GHON, Ueber die Meningitis bei der Influenzaerkrankung. (Wien. Klin. Woch., 1902).

GIOELLI e ZIROGLIA, Contributo allo studio della localizzazione e morfologia del bacillo dell'influenza. (Ann. d'Igiene sperimentale, Nuova serie, Vol. X).

GIARRÈ e PICCHI, Studio clinico e batteriologico su di alcune forme di congiuntivite infantile. (La Settimana Medica dello Sperimentale, Anno III, n. 28).

—— Di un bacillo isolato dalla secrezione congiuntivale e bronchiale di diversi bambini morbillosi. (La Clinica Moderna, Anno, VI, 1900).

—— Ricerche batteriologiche su alcune complicanze del morbillo. (Atti dell'Accademia Medico-Fisica fiorentina, maggio, 1902).

—— Bacteriologische Untersuchungen über einige Complicationen der Morbillen. (Die Medicinische Woche, 1903, No. 9, 11, 13, 14).

GIARRÈ, Ricerche batteriologiche in alcuni casi d'influenza. (Rivista di Clinica Pediatrica, Anno I, n. 3).

GROSSBERGER, Beiträge zur Bakteriologie der Influenza. (Zeitschr. für Hygiene, Bd. XXV).

HOFMANN, Vorkommen und Bedeutung des Koch-Weeks'schen Bacillus. (Zeitschr. für Hygiene etc., Bd. XXXIII).

JEHLE, Ueber die Rolle der Influenza als Mischinfection bei den exanthematischen Erkrankungen und das Vorkommen von Influenzabacillen im Blute. (Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. XXII, 1901).

JOSIAS, Ricerche sperimentali sul morbillo. (Compte rendus de l'Académie de Médecine, 1898, 8 mars).

JUNDELL, Études de bacteriologie clinique sur les bronchites. (Hygiea nov., déc. 1901: rif. in Semaine méd., 1902).

KAMEN, Zur Aetiologie der epidemischen Bindehautentzündung. (Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. XXV, 1899).

KARTULIS, Zur Aetiologie der egyptischen Katarrhalischen Conjunctivitis. (Centralblatt für Bakteriologie, etc., Bd. I).

KOCH, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheit. Bd. III. (Bericht der Cholera commission, 10 November, 1883).

KRUSE, Zur Aetiologie und Diagnose der Influenza. (Deutsche Med. Woch., 1894).

LEHMANN, Zur Tenacität des Maserngiftes. (Deuts. med. Woch., 1902, No. 5).

LEINER, Ueber Influenza als Mischinfection bei Diphterie. (Wien. klin. Wochensch., 1901, No. 41).

LESAGE, Microbe de la rougeole. (Comp. rend. de la Soc. de Biologie, 3 mars, 1900).

LIEBSCHER, Ueber Influenzabacillenbefunde bei Masern- und Scharlacherkrankungen. (Präger med. Wochensch., 1903, No. 8).

MEUNIER, Dix cas de bronchopneumonie infantile dus au bacille de Pfeiffer. (Arch. gén. de Méd., 1900).

—— Pleurésie, méningite et osteopériostite provoquées par le bacille Pfeiffer. (Comp. rendu de la Soc. de Biologie, 1900).

RAX, Recherches bactériologiques sur l'étiologie de la conjonctivite aïgue. (Thèse de Paris, 1894).

— Bemerkungen zum Artikel der Herren Weichselbaum und Müller. (Graefe's Archiv f. Ophtalmologie, Bd. XLVII).

ORAX und BEACH, Die Bakteriologie der acuten contagiösen Conjunctivitis etc. (Arch. f. Augenheilkunde, Bd. XXXIII).

ORAX et PETIT, Considérations cliniques et bactériologiques sur les inflammations aïgues de la conjonctive. (Annales d'oculistique, 1898).

ÜLLER, Ueber die Aegyptischen Augenentzündungen. (Archiv. f. Augenheilk., Bd. XL).

MYA, Ueber die durch den Pfeiffer'schen Bacillus verursacts fibrinopurulente Cerebrospinalmeningitis. (Monatschrift für Kinderheilkunde, Bd. I, 1902).

NEUMANN, Bakteriologische Untersuchungen gesunder und kranker Nase. (Zeitsch. f. Hygiene etc., Bd. 40, 1902).

ONORATO, Der Widerstand des Influenza-bacillus gegen physische und chemische Mittel. (Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. XXXI, originale).

PACCHIONI, Ricerche batteriologiche nel morbillo. (Atti dell'Accademia medico-fisica fiorentina, 20 maggio 1902).

— Artrite e meningite cerebro-spinale purulente determinate da un bacillo emofilo. (Atti dell'Accademia medico-fisica fiorentina, 10 giugno 1902).

PALTAUF, Pathologisch-Anatomisches und Bakteriologisches zur Influenza der Respirationtractus. (Wien. Klin. Wochensch., 1899).

PEREZ, Die Influenza in chirurgischer Beziehung-Experimentelle etc. (Deutsch. Zeitsch. für Chirurgie, LXIII, 1902; rif. in Centralblatt f. Bakteriologie etc., Bd. XXXII).

PLAUT und VON ZELEWSKY, Ueber den Bakteriengehalt der Bindehaut nach der Thränensackextirpation. (Rif. in Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. XXX).

PFEIFFER, Die Aetiologie der Influenza. (Zeitschr. f. Hyg., Bd. XIII, 1893).

QUR NEDDEN, (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk., XXXVIII, 1900).

ROSENTHAL, Recherches bactériologiques et cliniques sur quelques cas de bronco-pneumonie aïgue. (Thèse de Paris, 1900).

— Sur le coccobacille hémophile. (Soc. de Biologie, 1900, 17 mars).

— Non spécificité grippale. Inoculation mixte du cocco-bacille hémophile. (Cocco-bacille de Pfeiffer). (Presse medicale, 1901, 1 mai).

RYMOWITSCH, Die Bedeutung der Symbiose der Bakterien bei Infectionen des Conjunctivalsackes. (Russ. Arch. f. Path. Klin. Med. und Bakt, Bd. XII, 1901; rif. in Centralblatt f. Bakteriologie etc., Bd. XXX).

— Zur Aetiologie des akuten infektiösen Bindehautskatarrhes in Kasan. (Wratsch, Bd. XX; rif. in Ergebnisse der Allg. Path. u. path. Anat. des Auges, 1901).

RYMOWITSCH, Der Bacillus der akuten infektiösen Conjunctivitis (Koch-Weeks) im sein Verhältniss zum Influenzabacillus. (Russ. Arch. f. Path. Klin. med. und Bakt., XII, 1901; rif. in Centralblatt f. Bakteriologie etc., Bd. XXXI).

SLATINEANO, Septicoemie experimentale par le cocco-bacille de Pfeiffer. (Compte-rendus de la Soc. de Biologie, 1901, n. 29).

SLAWYK, (Zeitschrift. f. Hygiene etc., 1899).

STEINHAUS, Histologische Untersuchungen über die Masernpneumonie, (Beiträg. z. path. Anat. u. Algem. Path., XXIX, No. 3).

SÜSSWEIN, Die Influenza bei Masern. (Wien. Klin. Wochensch., 1901. No. 47).

TRAILESCU, Ein Fall von Meningitis etc. (Spit. Bucarest Annl., Bd. XXI, 1902, No. 19; rif. in Centralblatt f. Bakteriologie etc., Bd. XXXII).

TREITEL, Ueber Influenza Pharingitis und Laringitis. (Arch. f. Laryngologie und Rhinologie, Bd. XIII, 1902; rif. in Centralblatt f. Bakteriologie etc., Bd. XXXI).

WEEKS, Der Bacillus des acuten Bindehautkatarhes. (Archiv f. Augenheilkunde, 1887, Bd. XVII).

WEICHSELBAUM und MÜLLER, Ueber der Koch-Weeks'schen Bacillus der acuten Conjuctivitis (Arch. f. Ophtalmologie, Bd. XLVII).

WILBRAND, SÄNGER und STÄLIN, Untersuchungen über eine Conjunctivitis-Epidemie. (Jahrbücher des Hamburger Stats Krankenanstalten, 1891-92, Bd. IX).

Clinica Dermosifilopatica della R. Università di Parma, diretta dal Prof. V. Mibelli.

SUL PROCESSO
DI
ATROFIA DEL TESSUTO ADIPOSO SOTTOCUTANEO
NEL DIMAGRAMENTO.

STUDIO ISTOLOGICO
DEL
DOTT. A. PASINI.

Il tessuto adiposo sottocutaneo subisce nel dimagramento un processo di atrofia, e questo è istologicamente contrassegnato da determinati aspetti morfologici, che conferiscono a detto tessuto una configurazione anatomica affatto diversa da quella ch' esso possiede nel suo perfetto sviluppo, e che mutano, seguendo un ordine fisso, col progredire del processo medesimo. In conseguenza del cambiato aspetto morfologico, il tessuto adiposo sottocutaneo, sia nello stato di completa atrofia che in certe fasi del processo regressivo, presenta delle particolarità di struttura, che possono essere di dubbia e difficile interpretazione anche per un istologo provetto, che non abbia una conoscenza speciale delle modificazioni anatomiche alle quali si accompagna lo svolgersi di detto processo. Mi sembra utile pertanto il riferire il risultato di alcune mie ricerche sull' argomento, a rendere maggiormente nota l' evoluzione istomorfologica che subiscono le cellule del tessuto adiposo sottocutaneo nei diversi momenti del processo di atrofia.

Un breve cenno sulle origini del tessuto adiposo renderà maggiormente intelligibili alcune particolarità che andrò in seguito esponendo.

È oggidì ammesso dalla gran maggioranza degli anatomici, che tutte le cellule adipose provengono dalle comuni cellule del tessuto connettivo, e sono pochi coloro i quali ascrivono ancora la proprietà di formare e di accumulare del grasso a cellule simili alle plasmatiche, od alle cellule plasmatiche medesime.

Non tutti gli elementi del connettivo subiscono però una stessa evoluzione trasformandosi in cellule adipose, e *Tholdt* ha stabilito una profonda differenza fra il vero sistema del *tessuto adiposo*, e le cellule ripiene di grasso che si possono trovare dappertutto. Il primo è costante, appare in forma rudimentale nell' embrione, possiede un proprio apparato circolatorio, nervi e linfatici, e trovasi in località ben determinate: nella sua architettura entrano a costituirlo i — *Fettkeimlagern* — di *Tholdt*. Da questo vero tessuto adiposo, il quale rappresenta fisiologicamente un magazzino di riserva dell'organismo, il *Tholdt* distingue il grasso che può depositarsi entro cellule connettivali in punti non determinabili, in quantità maggiore o minore a seconda dello stato di nutrizione dell' individuo.

Gli elementi del *tessuto adiposo* descritti da *Tholdt* con la denominazione di — *Fettkeimlagern*, ossia *campi germinativi del grasso* — corrispondono a quelli che furono in prosieguo studiati da *Flemming* e da *Kölliker*, e da questi AA. indicati con la denominazione di — *organi primitivi dei lobuli grassosi.* — Essi si sviluppano precocemente nella vita fetale: infatti in preparazioni istologiche che io ho ottenuto da feti in diversa epoca di gestazione, li ho potuti osservare già differenziati a cominciare dal quarto mese della vita intrauterina. Nell'adulto essi rimangono ordinati a formare un tessuto ad elementi morfologici speciali, anche quando contengono poco o punto grasso, e si differenziano sempre nettamente dal tessuto connettivo circostante: il grasso invece che si deposita entro le cellule connettivali in punti non determinabili dell'organismo, quando scompare ridona alle cellule connettivali la loro forma primitiva.

I *campi germinativi del grasso* costituiscono nel loro pieno sviluppo evolutivo i « *pacchetti adiposi* », e sono disposti con

ordine fisso nel tessuto sottocutaneo: essi si presentano originariamente, così come descrive il *Szymonowicz*, in forma di lobuli grigio-rossastri, costituiti da cellule rotonde, con protoplasma splendente; in condizioni favorevoli queste cellule cominciano a formare e ad accumulare del grasso: esso compare nel protoplasma in forma di piccole gocciole adipose splendenti, le quali aumentano sempre più in numero, e si fondono in gocciole più grosse, così da formare infine una sola gocciola grassosa, la quale riempie quasi completamente tutta la cellula; la piccola porzione di protoplasma rimasto inalterato è spinta alla periferia: il nucleo subisce spesso un appiattimento contro la membrana cellulare, la quale si è formata a spese della parte superficiale della cellula.

Non tutti gli animali però sono provvisti di un tessuto adiposo avente gli stessi caratteri morfologici: secondo le osservazioni di *Hammar* si deve distinguere un *weisses* da un *braunes Fettgewebe*: il primo corrisponde a quello che esiste nell' uomo, nel vitello, ecc....: il secondo è proprio del topo, del coniglio e della cavia, e si differenzia dal primo per un notevole aumento in volume delle cellule, il quale precede la loro trasformazione in cellule grassose.

Il tessuto adiposo così costituito rappresenta un magazzino di provvista nel quale viene depositato l' eccesso di materiale nutritizio, e che tale interpretazione sia conforme al vero, è provato dalla circostanza, che ad esso l'organismo ricorre tosto in caso di insufficiente nutrizione: in questa eventualità il grasso ritorna dalle cellule adipose al torrente circolatorio, il quale è deputato a distribuire il materiale nutritizio per tutta la economia.

Non è ancora definito come avvenga il passaggio del grasso dalla cellula adiposa nel sangue, e neppure è conosciuto con certezza il modo nel quale il grasso viene primitivamente assorbito dal contenuto intestinale, passa da questo nel torrente circolatorio e dal plasma sanguigno dentro gli elementi del tessuto adiposo. Certo però si deve ritenere col *Poljakoff*, che il dimagramento, l' atrofia e la degenerazione grassa, e la formazione del grasso sono due processi contrapposti, i quali

seguono uno stesso tipo con un succedersi di avvenimenti inverso: e come già era avvenuto al *Poljakoff*, a me pure accadde talvolta, nel corso delle mie osservazioni, di dover ricorrere alle notizie cliniche, per assicurarmi se il pezzo che avevo in esame rappresentava un processo di atrofia o di rigenerazione del grasso.

Fra tante questioni insolute che offre lo studio del tessuto adiposo, io ho soffermato e circoscritto la mia attenzione, a bene stabilire come si svolge il processo di atrofia nel tessuto adiposo sottocutaneo durante il dimagramento. Mi procurai il materiale anatomico togliendolo da bambini morti in vario stadio di dimagramento, e da svariatissime parti della superficie cutanea: ho così potuto ottenere una serie di preparati istologici, che corrispondono alle diverse fasi progressive del processo di atrofia nel tessuto adiposo sottocutaneo.

Se si osserva un preparato di tessuto tolto da un individuo all'inizio del periodo di dimagramento, si vede tosto che le singole cellule adipose sono alquanto diminuite in volume: i loro nuclei non sono più compressi ed appiattiti contro la membrana cellulare, ma hanno acquistato una forma ovoidale o rotondeggiante, e sporgono variamente nel lume della cellula adiposa, ora rimanendo accollati alla membrana cellulare, ora essendosi da questa distaccati: ogni nucleo ha acquistato una rete cromatinica ben distinta, con punti nodali più grossi e foggianti dei nucleoli. Ma il fatto più importante che riguarda i nuclei delle cellule adipose che entrano in processo di atrofia, è rappresentato dalla scomparsa in essi dei vacuoli che normalmente, secondo le osservazioni di *Sack*, di *Unna* e di *Rabl*, si osservano nel tessuto adiposo perfettamente sviluppato.

Il protoplasma della cellula entra, al pari dei nuclei, in attività, e si avanza dalla membrana periferica verso l'interno della cellula, circondando d'ogni parte la gocciola adiposa: abbonda sempre però nell'emisfero cellulare nel quale si trova il nucleo. Dovunque il protoplasma ha un aspetto uniforme e si tinge in modo debolissimo ed omogeneo con le sostanze coloranti acide.

Le grosse gocciole di grasso che sono contenute nelle cellule ed, a tessuto adiposo perfettamente sviluppato, le occupano quasi intieramente, diminuiscono di volume in proporzione, sia del rimpicciolimento che subiscono le cellule in totalità, sia in ragione dell' aumento del nucleo e del protoplasma delle cellule stesse: ogni gocciola di grasso si riduce così di un terzo circa del suo volume iniziale.

In questo primo stadio del processo di atrofia il grasso intracellulare è ancora identificabile come tale alle reazioni specifiche istochimiche: esso infatti appare in forma di spazî vuoti a margini netti e regolari nei pezzi fissati in alcool, come gocciole tinte uniformemente in nero nei pezzi trattati con l'acido osmico, e come gocciole giallo-aranciate nei pezzi freschi, sezionati al microtomo congelatore, e trattati con il metodo del *Daddi* al Sudan III.

Il connettivo che si trova fra le cellule contenenti il grasso subisce pure alcune modificazioni morfologiche: mentre nel tessuto adiposo perfettamente sviluppato le fibre connettivali, essendo compresse fra le cellule grassose, sono sottili, schiacciate e poco appariscenti, nel medesimo tessuto in processo di atrofia, aumentando lo spazio fra cellula e cellula per il rimpicciolire di questi elementi, le fibre del connettivo ingrossano ed assumono un aspetto chiaramente ramificato.

Anche i piccoli e numerosissimi vasi che formano la rete propria dei lobuli grassosi partecipano al mutamento generale, che offre il tessuto cui si distribuiscono: essi divengono molto evidenti perchè ripieni di una grande quantità di globuli rossi: la mancanza quasi completa nei vasi di leucociti dimostra che si ha una iperemia attiva ed esclude possa trattarsi di una stasi.

Perdurando le cause che determinano da parte dell' organismo il bisogno di ricorrere per la sua nutrizione al magazzino di riserva rappresentato dall' adipe, il quadro istologico testè descritto muta improvvisamente.

Le cellule adipose non sono più differenziabili in una porzione protoplasmatica periferica contenente il nucleo, ed in una porzione centrale rappresentata da una gocciola unica

di grasso; questa scompare improvvisamente, ed a tale scomparsa tien dietro un rapido mutamento nella costituzione morfologica delle cellule: esse diminuiscono ancora di volume, il loro nucleo si porta verso il centro, e tutta la porzione protoplasmatica viene ad essere occupata da un grossolano reticolo granuloso, distribuito a formare delle maglie irregolari, tingibile dai colori acidi, e sospeso in una sostanza fluida, omogenea, che reagisce male sia alle sostanze coloranti acide che alle basiche. (Vedi Fig. 1ª).

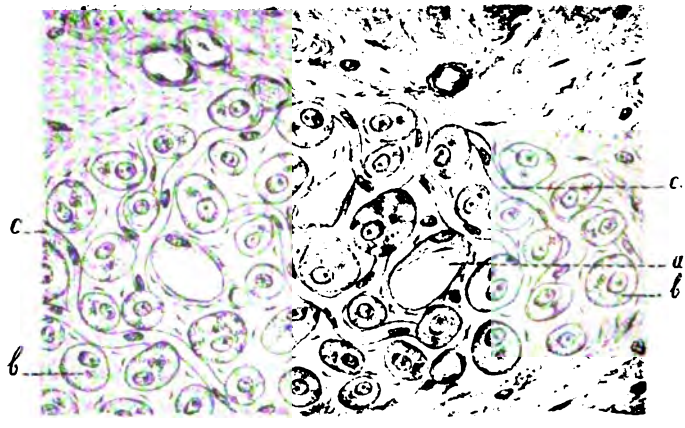


FIGURA 1ª.
a. Cellule adipose contenenti ancora la gocciola di grasso.
b. Cellule nelle quali la gocciola di grasso è scomparsa, ed al posto occupato da questa si è sostituito un reticolo molto irregolare di protoplasma granuloso.
c. Vasi sanguigni ripieni di globuli rossi.

Lo spazio fra cellula e cellula adiposa aumenta sempre più: gli elementi connettivali, che prima erano aumentati in volume, hanno acquistato a poco poco un aspetto omogeneo, e subiscono ora uno sfibrillamento, il quale impartisce ad essi la configurazione di un fine reticolo, il quale serve di sostegno alle cellule grassose in atrofia.

I piccoli numerosissimi vasi sanguigni, con il ridursi in volume del tessuto al quale sono distribuiti, sembrano aumentati nel loro numero assoluto; essi si avvicinano fra di loro, e formano una rete a maglie molto spesse, racchiudenti una a più cellule adipose in atrofia.

In un periodo ancora più avanzato del processo di atrofia il tessuto adiposo sottocutaneo acquista un aspetto morfologico definitivo.

Le cellule grassose sono ridotte ad un quinto circa del loro volume iniziale, ed hanno forma rotonda o leggermente ovoidale. I nuclei occupano la porzione centrale delle cellule, e conservano la forma ed il volume che avevano assunto all' iniziarsi del processo di atrofia: solo il reticolo cromatinico è diventato più confuso, ed in alcuni punti si è aggomitolato sopra sè stesso a formare delle grosse zolle, fortemente tingibili dai colori basici. Il protoplasma delle cellule, con il diminuire in volume delle stesse, ha perduto a poco a poco l' aspetto granulare e la disposizione a reticolo; si è omogeneizzato ed assume abbastanza bene ed in modo uniforme il colore delle sostanze tintoriali acide: esso circonda il nucleo come uno stretto cerchio di sostanza omogenea. Ogni cellula è delimitata alla periferia da una membranella anista, sottile e molto evidente. (Vedi Fig. 2ª).

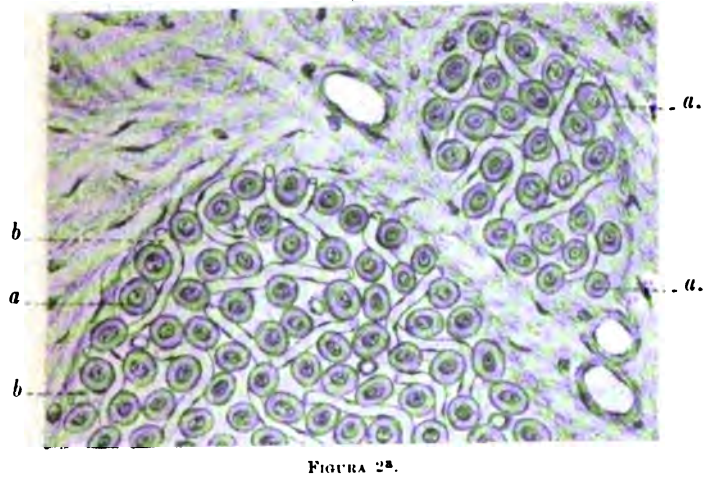


Figura 2ª.
a. Cellule adipose in istadio di completa atrofia.
b. Vasi sanguigni ridotti a sottilissimi canalicoli e privi di sangue.

Nel tempo stesso che avvengono tali ultime modificazioni morfologiche, le cellule adipose si avvicinano e si addossano fra di loro, così che il connettivo ad esse interposto ne rimane

compresso, le sue fibre tornano ad atrofizzarsi e di esso non rimane da ultimo che qualche sottile fibrilla protoplasmatica ed i nuclei, i quali hanno acquistato una forma allungata ed appiattita.

La distribuzione vasale dei singoli lobuli adiposi si è fatta evidentissima: da un tronco vasale principale, che generalmente penetra ed attraversa per un tratto più o meno lungo ogni lobulo, si distaccano numerosissime ramificazioni di grossezza varia, le quali si riducono tosto in sottilissimi capillari: questi si intrecciano in modo svariatissimo, e limitano dei piccoli spazii contenenti una o più cellule adipose in atrofia: detti vasi capillari hanno istologicamente l'aspetto di canalicoli di piccolo calibro, sono privi di sangue e limitati da una sottilissima membrana provvista qua e là di nuclei appiattiti e sottili.

Nel suo complesso il tessuto connettivo adiposo sottocutaneo in completa atrofia rassomiglia ad un accumulo ben delimitato di cellule simili alle epiteliali, disseminate nelle maglie di una fitta rete di vasi capillari. Per tale nuova configurazione, esso viene ad assumere i caratteri morfologici delle ghiandole, delle quali assume inoltre le proprietà tintoriali: infatti, come nelle cellule epiteliali delle ghiandole, anche nelle cellule del tessuto adiposo sottocutaneo atrofizzato il protoplasma si tinge in giallo col metodo del *Van Gieson*, in modo che ogni lobulo spicca per il suo prevalente colorito giallastro sul connettivo circostante tinto in rosso.

Le affinità tintoriali delle cellule adipose in atrofia provano che esse, quantunque provengano originariamente dal tessuto connettivo, si differenziano completamente da questo nel loro successivo funzionamento fisiologico.

Il descritto processo di atrofia non avviene quasi mai contemporaneamente in tutte le cellule adipose di uno stesso lobulo, cosicchè accanto ad elementi cellulari in diverso stadio evolutivo di atrofia, se ne possono trovare altri che corrispondono a tessuto adiposo perfettamente sviluppato; un aspetto morfologico omogeneo in tutte le cellule si ha solamente allorquando detto processo è molto avanzato, ed i lobuli adiposi hanno dovuto cedere tutta la loro provvista di grasso.

Il quadro istologico ora delineato è quello che corrisponde al processo di atrofia del tessuto adiposo sottocutaneo, come esso avviene di norma. Devo però far notare che alcune volte si osserva in qualche elemento cellulare isolato una deviazione dal tipo normale, e cioè: talora si vede che, dopo la improvvisa scomparsa della gocciola adiposa, permane nelle maglie del grossolano reticolo protoplasmatico qualche gocciolina di grasso, che si può mettere in evidenza con molta chiarezza nelle preparazioni col Sudan III. Con la stessa preparazione si vede altre volte che la grossa gocciola adiposa, in luogo di scomparire, subisce solamente una frammentazione in tante goccioline di varia grandezza, e che queste vanno scemando gradatamente in numero, senza che sia dato di sorprendere istologicamente il modo nel quale esse si eliminano dalla cellula adiposa: alla scomparsa delle goccioline di grasso va associato un graduale rimpicciolimento delle cellule, procedendo la contrazione del protoplasma di pari passo con la diminuzione della massa adiposa.

* * *

Il processo di atrofia ora descritto corrisponde nei suoi caratteri generali a quello che il *Poljakoff* indica col nome di *atrofia sierosa*, e che egli dà come proprio della inanizione acuta. Ho detto « nei suoi caratteri generali », inquantochè non trovo nello studio del *Poljakoff*, una suddivisione ed una descrizione dei diversi stadî, attraverso ai quali passa il tessuto adiposo sottocutaneo prima di raggiungere lo stato di completa atrofia, così come io ho osservato e descritto: nei suoi caratteri istologici principali però le osservazioni del *Poljakoff* si accordano con le mie presenti, e non dubito che esse corrispondano ad un unico processo.

La scomparsa del grasso mediante l'atrofia sierosa non è comune a tutto il tessuto adiposo del quale è provvisto l'organismo, ma, come fa osservare il *Poljakoff*, è limitato a quello che serve, in un medesimo tempo, come magazzino di riserva ed a scopo meccanico: da questa circostanza lo stesso Autore

deduce che le cellule adipose, dopo aver perduto il grasso, si riempiano di sierosità, per ricompensare con una sostanza fluida la primitiva che è scomparsa. La deduzione del *Poljakoff* è certamente logica, ma non oltrepassa il campo delle ipotesi, e non spiega come e perchè avvenga l'improvviso mutamento della gocciola di grasso nella cellula adiposa, quali siano i prodotti di tale mutamento, e come questi passino nel torrente circolatorio.

Una risposta soddisfacente a tali domande parmi si possa trovare, mettendo in relazione il reperto istologico ora descritto, con le attuali teorie biochimiche sull'assorbimento dei grassi, ed il loro passaggio, sia dall'albero circolatorio nelle cellule deputate ad immagazzinarlo, che da queste ancora al torrente circolatorio.

Dal fatto che non si è mai potuto sorprendere istologicamente il passaggio delle gocciole di grasso dalle cellule intestinali nel sangue e da queste nelle cellule adipose, oggidì si è propensi ad ammettere, che tale passaggio si compia mediante un duplice processo chimico di scomposizione e di ricomposizione dei grassi: e poichè questi si trovano nei tessuti e nel sangue allo stato di grassi neutri, il *Bottazzi* crede che, effettuandosi una scomposizione, essa debba avvenire al momento nel quale si effettua detto passaggio e mediante una scissione dei grassi neutri nei suoi prodotti di composizione, in acidi grassi e glicerina.

Non è possibile controllare con reazioni microchimiche il verificarsi di tale scomposizione, e la presenza dei suoi prodotti nei tessuti: io però mi credo autorizzato ad ammetterla considerando lo svolgersi del processo istologico che ho testè descritto. Nelle mie preparazioni io ho osservato che, dopo un breve periodo nel quale il nucleo ed il protoplasma della cellula adiposa erano entrati in attività, come ci era attestato dal loro aumento in volume, la gocciola di grasso subiva ad un tratto, ora nell'una ora nell'altra cellula, una trasformazione per la quale non era più possibile rilevarla come tale coi noti reagenti del grasso. Se non abbiamo quindi a nostra disposizione delle reazioni microchimiche, che ci permettano

di valutare quale sia la natura della nuova sostanza che sostituisce il grasso, abbiamo nella mancanza improvvisa delle reazioni che a questo sono proprie, un criterio sufficiente e indubbio ad ammettere ch' esso abbia subìto una trasformazione.

Quale sia l' agente vero, al quale deve riportarsi l' improvvisa trasformazione del grasso, è pure incerto. Fra le varie ipotesi che furono emesse a tale proposito, è comunemente accettata quella del *Gautier*, il quale pensa, che, durante il dimagramento, possa venire elaborato e comparire nella economia un enzima analogo a quello contenuto nel succo pancreatico, il quale trasformerebbe i grassi neutri in glicerina ed acidi grassi. Ora considerando la circostanza che la gocciola di grasso scompare dalla cellula adiposa dopo un periodo nel quale il nucleo ed il protoplasma sono entrati in attività, a me sembra più naturale l' avanzare come deduzione la ipotesi, che da questi possa venire elaborata la sostanza, che determina il successivo fenomeno chimico.

Ma se da una parte la osservazione istologica, messa in relazione con le odierne vedute biochimiche, ci dà ragione a credere che il grasso, scomparendo dalla cellula adiposa, subisca una scomposizione e muti la sua entità chimica, da un' altra parte il ritrovarlo ancora, come è ben noto, allo stato di grasso neutro e sotto forma di piccole goccioline nel plasma sanguigno, ci attesta che è avvenuto un processo di ricomposizione, e che le modificazioni chimiche testè accennate rappresentavano un fenomeno intimamente legato al passaggio del grasso dalla cellula adiposa nel torrente circolatorio.

La ragione poi della ricomposizione dei grassi neutri nel sangue sarebbe riposta, secondo il *Munk*, nella grande tossicità dei saponi e nel fatto che gli acidi grassi, qualora entrassero come tali nel torrente circolatorio, o non sarebbero più solubili, o formerebbero sempre saponi con gli alcali del plasma sanguigno.

Abbiamo quindi osservato: da una parte, che il grasso neutro scompare improvvisamente dalla cellula adiposa in processo di atrofia, senza una precedente frammentazione, e senza che sia dato di sorprendere il suo passaggio attraverso la

membrana cellulare: da un' altra parte ch' esso riappare nel sangue, e sotto forma di grasso neutro. È logico il dedurre la conclusione, che *il grasso delle cellule adipose subisce una trasformazione chimica all'atto di passare nel torrente circolatorio*, e *che tale trasformazione è limitata al momento, nel quale esso abbandona la cellula adiposa e passa attraverso la membrana cellulare.*

Resta ora a domandarsi se il grasso subisce sempre tale trasformazione, o può anche venire assorbito direttamente dal sangue allo stato di grasso neutro.

Come ho già detto, nessuno ha mai potuto sorprendere un momento istologico, che dia conferma sicura a questo secondo concetto. Però secondo il *Poljakoff*, esistono nel tessuto adiposo delle cellule speciali, e ch'Egli chiama — *Adipophoren* — le quali sono frapposte alle cellule adipose, e sarebbero destinate al trasporto delle goccioline di grasso nel sangue: questi elementi si troverebbero specialmente dove si ha la frammentazione della grossa gocciola adiposa unica in tante piccole goccioline. Io pure, nelle mie preparazioni istologiche, ho trovato, e testè descritto, delle cellule che presentavano la frammentazione della gocciola adiposa: esse però erano circondate da cellule connettivali, che non ricordavano affatto le — *adipophoren* — del *Poljakoff*, nè avevano alcun carattere, che mi autorizza ad interpretarle come trasportatrici del grasso dalle cellule adipose nel sangue, vuoi perchè prive affatto di tale sostanza, vuoi perchè non sempre legate ad un vaso sanguigno o linfatico: ed anche se io avessi trovato in tali cellule delle goccioline di grasso, prima di affermare la sua provenienza dalle cellule adipose, avrei dovuto provare che lo stesso non derivava da una degenerazione del protoplasma cellulare.

Devo però convenire che il non avere osservato nel tessuto adiposo sottocutaneo delle cellule speciali trasportatrici del grasso, non mi dà un criterio sufficiente a negare in modo assoluto, che le cellule le quali subiscono, in luogo della scomposizione, una frammentazione della gocciola di adipe, possano cedere quest'ultimo direttamente nel sangue. Il fatto di non avere mai osservato istologicamente tale passaggio ha un valore relativo, come tutti i reperti negativi: esso ne acqui-

sterebbe uno positivo, solamente nel caso che fosse dimostrato per le cellule a gocciola adiposa frammentata un altro processo, mediante il quale le goccioline di grasso passano nel sangue.

Concludendo quindi dalle presenti osservazioni, mi sembra di poter affermare, che *nel processo di atrofia del tessuto adiposo sottocutaneo il grasso passa normalmente dalle cellule adipose nel sangue, mediante un duplice processo di scomposizione e di ricomposizione.* Non mi credo però autorizzato a negare, che in quelle scarse cellule nelle quali è avvenuta la frammentazione della gocciola di grasso, questo possa venire assorbito meccanicamente, a guisa di amebe, dai piccoli vasi capillari, che circondano le cellule adipose come le maglie di una fitta rete.

Bibliografia consultata.

C. Tholdt, Beiträge zur Histologie und Physiologie des Fettgewebes. Sitzungberichte der Math.-Naturwissenschaftlichen Classe. (Wien, LXII, pag. 445, 1870).

Flemming, Ueber die Bildung und Rüchbildung der Fettzellen im Bindegewebe und Bemerkungen ueber die Structur des lezteren. (Arch. f. mikr. Anatomie, Bd. 7, 1876).

— Weitere Mittheilungen zur Physiologie der Fettzelle. (Archiv für mikr. Anatomie, 1879).

Kölliker, Handbuch der Gewebelehre, Bd. I, 1899.

Szymonowicz, Trattato di Istologia ed Anatomia microscopica. (Trad. del dott. Chiarini con note del Prof. Mazzini. Roma, 1903).

Hammar, Zur Kenntniss des Fettgewebes. (Arch. f. mikr. Anatomie, Bd. 45, 1895, pag. 314).

Poljakoff, Ueber eine neue Art von fettbildenden Organen im lokern Bindegewebe. (Archiv für mikr. Anatomie, Bd. 32, 1888, pag. 123).

— Beiträge zur mikroskopischen Anatomie und Physiologie des lokern Bindegewebes. (Archiv für mikr. Anatomie, Bd. 45, 1895, pag. 574).

Sack, Note sur le tissu adipeux. (Annales de Dermat. et de Syphilogr., 1898).

Unna, Ueber die Lochkerne des Fettgewebes. Arbeiten aus Dr. Unna's klinik für Hautkrankheiten in Amburg, 1896.

Rabl, Ueber die kerne der Fettzellen. (Archiv für mikr. Anatomie, Bd. 47).

Bottazzi, Chimica fisiologica, 1898, vol. I, pag. 183 e seg.

Luciani, Fisiologia dell'uomo. 1901, vol. I, pag. 813.

(Istituto di Fisiologia dell' Università di Padova, diretto dal Prof. A. Stefani).

DOTT. B. VASOIN

Aiuto.

SUL GLICOGENE EPATICO DELLE RANE IBERNANTI

E SULLE SUE MODIFICAZIONI QUANTITATIVE

IN SEGUITO AD UN AUMENTO RAPIDO DELLA TEMPERATURA

NELLE RANE NORMALI E NELLE RANE CON VAGO TAGLIATO.

È noto che la quantità di glicogene nell'animale vivente è subordinata, oltre che all'influenza del sistema nervoso, anche a parecchie condizioni estrinseche. Così per es. noi sappiamo che la produzione di esso è subordinata al genere e alla copia degli alimenti, e sappiamo inoltre che il digiuno, il lavoro muscolare, alcuni veleni, il freddo, l'alta temperatura, ecc. ne determinano, in un tempo più o meno breve, la scomparsa parziale o assoluta.

Scopo di queste mie esperienze si è quello di meglio determinare quale sia la perdita di glicogene epatico che si verifica in seguito ad un innalzamento della temperatura esterna, e di studiare se essa sia dovuta all' azione diretta della temperatura, oppure ad una speciale influenza del sistema nervoso.

Un innalzamento della temperatura fa risentire i suoi effetti tanto sul glicogene degli animali a sangue freddo, come su quello degli animali a sangue caldo; ma la complessità dei fenomeni che in questi ultimi si verifica, quando si eleva la temperatura, non ci permette di giungere a risultati precisi; negli animali poichilotermi invece in cui questi fenomeni non si avverano, perchè la loro temperatura interna subisce le stesse

oscillazioni di quella ambiente, abbiamo la possibilità di conoscere gli effetti veri e propri dell'aumentata temperatura.

Per questa e per altre ragioni che in seguito vedremo, eseguii le mie ricerche sulle rane, e per poter escludere tutte quelle condizioni, a noi note, che esercitano una qualche influenza sulla glicogenesi epatica, gli effetti delle quali avrebbero turbato il significato dei miei risultati, ho scelte le rane in letargo.

Premesso ciò, vediamo adesso quali sieno le cognizioni, che finora abbiamo, intorno al comportamento della glicogenesi epatica durante il letargo e come esso venga modificato da un aumento della temperatura.

In seguito agli studi di *C. Bernard* (1), il quale aveva esperimentato sulle marmotte, si venne a conoscere che nel fegato degli animali ibernanti, all'inizio del loro sonno invernale, si rinviene un accumulo di glicogene; poco dopo lo *Schiff* (2) confermava il ritrovato del *Bernard*, sperimentando sul fegato delle rane. Lo *Schiff* stesso poi aveva constatato che la quantità del glicogene epatico della marmotta in letargo andava progressivamente diminuendo, a mano a mano che si avvicinava l'epoca del risveglio. Più tardi il *Luchsinger* (3), avendo riscontrato una minore quantità di glicogene nel fegato della rana durante il mese di dicembre in confronto di quella rinvenuta nel mese di novembre, concluse che anche nella rana ibernante si verifica una diminuzione progressiva del glicogene epatico, ed espresse inoltre l'ipotesi, appoggiata anche abbastanza recentemente dal *Dewevre* (4), che al termine del letargo non ne dovesse esistere più alcuna traccia.

Benchè le ricerche del *Valentin* (5), del *Voit* (6), del *Külz* (7),

(1) C. Bernard, *Leçons de physiol. expérimentale*, 1855.

(2) M. Schiff, *De la nature des granulations ecc.* (C. R. d. Acc. d. Sciences, T. 48, 1859).

(3) Luchsinger, *Experimentelle und kritische Beiträge zur Physiol. u. Path. des Glycogens.* Zurich, 1875.

(4) Dewevre, *Sur la fonction glycogénique chez la grenouille d'hiver.* (C. R. d. Soc. d. Biol., 1892).

(5) Valentin cit. da Luchsinger.

(6) Voit cit. da Luchsinger.

(7) Külz, *Bildet der Muskel selbständig Glykogen?* (Pflüger's Arch., Bd. 24, 1881).

del *Dubois* (1), ecc., avessero assodato che il glicogene del fegato delle marmotte durante il letargo non scompare mai totalmente, pure la veduta secondo la quale nella rana ibernante si verificherebbe invece una assoluta perdita del glicogene al sopraggiungere della primavera, fu generalmente accolta come fosse suffragata da prove indiscutibili. Però nel 1898 venne scossa dal *Pflüger* (2), il quale, in collaborazione coll' *Athanasiu*, ha trovato che anche il glicogene epatico della rana, pur diminuendo durante il letargo, non scompare mai totalmente, e che anzi di esso se ne trova una discreta quantità all' epoca del risveglio.

Per quanto riguarda l' azione della temperatura, già lo *Schiffer* (3) aveva notato che la quantità del glicogene dei muscoli aumenta se una rana vien portata in un ambiente a temperatura relativamente elevata, aumento questo, che, secondo le odierne vedute, dai più accettate, io credo si debba interpretare ammettendo una diminuzione parallela del glicogene epatico. *Moszeich* (4), che studiò al microscopio i mutamenti del glicogene epatico della rana, ne osservò la scomparsa dopo un soggiorno di due settimane della rana stessa in un ambiente a 25° C.

L'*Athanasiu* (5) che recentemente ha studiato con mezzi chimici le modificazioni della quantità del glicogene totale, dovute al riscaldamento artificiale, ha riscontrato nella rana, sottoposta per dieci giorni a una temperatura di 22°-24° C. il 0,837 per cento in peso di animale vivo, laddove la percentuale nella rana mantenuta a 14° C. era di 1,34.

Concludendo quindi, dobbiamo tenere per dimostrato: che all' inizio del periodo letargico si trova nel fegato della rana

---

(1) *Variation du glycogène du foie ecc.* (C. R. d. Soc. d. Biol., 1894).

(2) Pflüger, *Beiträge zur Physiol. der Fettbildung, des Glykogens und der Phosforvergiftung.* (U. Mitwirk. v. Athanasiu). (Pflüger's Arch., Bd. 71, 1898).

(3) Schiffer, *Uber des Einfluss der Temperatur auf den Glykogengehalt des Froschmuskeln.* (Centralbl. f. d. M. Wochenschr., 1880).

(4) Moszeich, *Mikroscopische Untersuch. über den Glykogenansatz in der Froschleber.* (Pflüger Arch., Bd. 42).

(5) Athanasiu, *Uber den Gehalt des Froschkörpers von Glykogen in den verschiedenen Jahreszeiten.* (Pflüger's Arch., Bd. 74, 1899).

la massima quantità di glicogene; che questa quantità va progressivamente diminuendo fino a raggiungere un minimum al sopraggiungere della primavera, e che un aumento della temperatura esterna ne determina una diminuzione rapida. Come questa si comporti e quanto glicogene vada perduto per il semplice effetto della temperatura, non potei ritrovare nello spoglio della bibliografia.

In che modo si devono interpretare questi fenomeni?

L'accumulo e la graduale perdita di glicogene epatico che si avverano rispettivamente al principio e durante il sonno invernale, trovano la loro spiegazione nel concetto secondo cui il glicogene rappresenta, analogamente all'amido vegetale, un materiale di riserva; dobbiamo ammettere cioè, che la quantità di glicogene perduta sia quella che si è resa necessaria ad intrattenere i fenomeni vitali che in questo periodo si compiono. Tale diminuzione, che è relativamente piccola, è in rapporto colla debole attività funzionale di tutti gli organi dell'animale in letargo.

Vediamo adesso come si possa spiegare la perdita rapida e notevole di glicogene epatico che nelle rane ibernanti succede ad un innalzamento della temperatura.

In base alle ricerche di *Regnault* e *Reiset* [1], per mezzo delle quali nel 1843 venne dimostrato, in modo inconfutabile, che, allorquando la temperatura di un animale a sangue freddo varia, gli scambi respiratori aumentano o diminuiscono in rapporto diretto con questa, si dedusse che l'intensità di tutti i fenomeni biochimici subisce le stesse variazioni e oscilla nel medesimo senso della temperatura esterna.

Nelle rane ibernanti quindi, che vengono sottoposte ad una temperatura elevata, l'intensità delle trasformazioni chimiche e il consecutivo lavoro fisiologico crescono pari passo con la temperatura che si innalza, naturalmente entro determinati limiti.

Ad intrattenere le aumentate combustioni respiratorie

(1) Regnault et Reiset, *Recherches chimiques sur la respiration des animaux de diverses classes*. Paris. (Cit. Dictionnaire de Physios. C. Richet).

interstiziali, che, come dicemmo, accompagnano l'accresciuta attività dei tessuti, concorre, se non esclusivamente, ciò che *M. Chauveau* e *Kaufmann* [1] avrebbero dimostrato, certo in massima parte il glucosio il quale trova la sua origine in un processo di scomposizione del glucogene accumulato.

Oltre a ciò, per spiegare la diminuzione della quantità di glicogene epatico osservata dagli autori già ricordati, dobbiamo considerare che un animale a sangue freddo, quando vien collocato, durante il letargo, per più giorni in un ambiente caldo, si risveglia acquistando a poco a poco una straordinaria vivacità di movimenti, per effettuare i quali vi ha bisogno di una certa quantità di glucosio che viene impiegato dal muscolo come sorgente di energia.

Questo consumo di glucosio che si verifica nei diversi tessuti, porta come conseguenza una produzione compensatrice di esso da parte della cellula epatica, nella quale, mentre aumentano i prodotti catabolici (glucosio), per la mancanza o quasi di materiali nutritivi viene a far difetto la neoformazione di prodotti anabolici, dal che ne deriva la perdita del materiale immagazzinato.

Quanto di questo materiale vien distrutto per un determinato aumento della temperatura che ha agito per un lasso di tempo anche determinato? Questo è quanto mi sono proposto di ricercare con una prima serie di esperienze; con una seconda serie, come dissi, cercai di stabilire se esiste un nesso fisiologico fra questa azione della temperatura ed il sistema nervoso, e a tale scopo ho eseguite le mie ricerche in relazione al nervo vago.

Prima Serie.

Ho adoperato sempre rane appartenenti al genere « esculenta » e ciò per due ragioni: in primo luogo, perchè nei

---

(1) M. Chauveau et Kaufmann, cit. da Laulanié, *Traité de phys biologique*. Cap.: *Chaleur animale*. Paris, 1901.

stri paesi sono più facili ad aversi e secondariamente perchè fin da quando cominciai ad esercitarmi sulla tecnica da eseguire per il taglio del vago, mi sono accorto che esse resistono maggiormente, che non quelle del genere « temporaria ». Non appena portate dalla campagna in laboratorio, io sceglieva le rane in modo che per mole e per peso corporeo si corrispondessero il più possibile. Ne facevo quindi tre gruppi numericamente identici, e che per conseguenza risultavano di peso presso a poco eguale. Le rane di un gruppo venivano usufruite subito per l'esperimento, quelle degli altri due, collocate in appositi recipienti di vetro, ripieni per metà di sabbia umida, venivano portate in una stanza del laboratorio appositamente riscaldata ad una temperatura oscillante fra i 20° e i 25° C. Su questi due gruppi che erano lasciati al caldo, l'uno per un periodo di 24 ore, l'altro per un periodo di 48, studiai le modificazioni quantitative del glicogene epatico, dovute ad un relativo aumento di temperatura.

Ho creduto opportuno di limitare la permanenza degli animali nell'ambiente riscaldato, perchè in tal modo è più probabile di non andare errati, se all'azione della temperatura esclusivamente si fanno risalire le differenze nella quantità di glicogene, che più tardi rileveremo. Uccise le rane per mezzo della decapitazione, sollecitamente procedevo all'analisi quantitativa del glicogene epatico. Il metodo adoperato a tale scopo, è sostanzialmente quello stesso seguito dai fratelli *Cavazzani* (1) in questo laboratorio.

Levati i fegati (2) dalle rane e pesati. passavo al loro

(1) Fratelli Cavazzani, *Sulla funzione glicogenica del fegato.* (Annali di Chimica e di Farmac., 1894).

(2) Nel procedere all'estrazione dei fegati, mi occorse di notare un fatto, che mi sembra di qualche interesse. I fegati delle rane ibernanti si presentano piuttosto voluminosi, di un colorito rosso grigiastro e al tatto si rivelano alquanto consistenti. I fegati delle rane che hanno subìta l'influenza della temperatura elevata, sono piccoli, di colore rosso bruno intenso e facilmente spappolabili. Questo fenomeno, che io osservai nelle rane artificialmente riscaldate, è stato già posto in luce dal Marquis (cit. Ecker u. Wiedersheim, *Anatomie des Frosches*, II Abth., 1901), che ha studiati i mutamenti macroscopici del fegato della rana in rapporto alle diverse stagioni dell'anno. Egli ha visto che in aprile ed ottobre il fegato della rana acquista un colorito rosso scuro o bruno intenso. Il Leonard

spossamento e li ponevo quindi a bollire per 15 minuti in 150 cc. di acqua. Estratti poi dall'acqua stessa e triturati in un mortaio con l'aggiunta di polvere di vetro, onde agevolare lo spappolamento, stemperava la poltiglia nell'acqua per farla nuovamente bollire. Filtrava poi attraverso un pannolino molto denso, spremeva il residuo solido e di nuovo triturava per ricominciare le manovre suddette, fino a che l'acqua di lavaggio era limpida, senza opalescenza, e l'alcool assoluto non dava precipitazione, nè la tintura di iodio dava più la reazione rossa. Tutto il filtrato veniva allora ridotto a 100-120 cmc. mediante evaporazione a bagno maria. Ne prendevo 30 cmc. e vi aggiungevo 150 cmc. di alcool assoluto; dopo 24 ore filtrava, ed evaporato il filtrato, ne riprendeva il residuo secco con acqua e dosava il glucosio.

Mettevo invece altri 30 cmc. del filtrato con 12 cmc. di soluzione di acido cloridrico al 10 %, in un palloncino, che chiudeva ermeticamente, e lo facevo bollire a lungo in un bagno. Poi neutralizzava il liquido con una soluzione satura a freddo di carbonato sodico, filtrava, e dopo aver constatato che non esisteva più la reazione rossa colla tintura di iodio, dosava ancora il glucosio, per calcolare poi la quantità degli idrati di carbonio e da questa desumere la quantità di glicogene.

Dosava il glucosio col liquido titolato del *Fehling*.

L'inversione veniva fatta in palloncini delle stesse dimensioni, di egual spessore, messi a bollire nello stesso bagno per un lasso di tempo che era sempre il medesimo.

(cit. come sopra) più tardi confermò i risultati del Marquis, ed aggiunse inoltre, che il fegato diminuisce di volume durante il letargo e che nell'aprile, al termine cioè del sonno invernale, esso contiene il massimo di cellule pigmentifere, donde il colorito più carico, laddove il massimo di grandezza e il minimo di cellule pigmentifere si avrebbe nel novembre, epoca in cui il fegato ha un colore rosso sbiadito. Io credo, che il mutamento di colore, da grigio a rosso bruno, che io osservai nelle rane ris- date, si debba oltre che ai processi di ossidazione aumentati, anche ad accumulo di cellule pigmentifere. Ed è probabile, più nel mio caso che per le rane studiate nelle diverse stagioni, che esse sieno dovute ad disorganizzazione degli eritrociti e alla consecutiva deposizione nel fe dei detriti di questi (Löwit, cit. come sopra).

Non ripeterò le ragioni per le quali gli autori sopra citati si sono serviti di questo metodo; esse sono chiaramente esposte nella loro monografia « sulla funzione glicogenica del fegato ». Io lo prescelsi più che tutto perchè, come dimostrarono i fratelli *Cavazzani*, bene si presta per la massima uniformità. Per le mie ricerche di confronto era questo il requisito della più grande importanza.

Nelle seguenti tabelle sono espressi i valori in tal modo ricavati dalle mie esperienze.

Prima Serie. – Tab. N. I.

Rane ibernanti.

MESE	Num. delle rane	Peso delle rane espresso in gr.	Peso dei fegati espresso in gr.	Quantità totale di glicogene epatico espressa in gr.	Quantità di glicogene per gr. di fegato	Quantità di glicogene per gr. di animale vivo
Dicembre . .	7	120	8,800	0,8489	0,0964	0,00707
»	7	140	8,900	0,7596	0,0853	0,00542
»	5	109	8,900	0,7541	0,0847	0,00691
Gennaio . . .	7	130	10,200	0,8058	0.0790	0,00619
»	8	100	8,750	0,6100	0,0697	0,00610
Febbraio . .	9	120	13,600	0,7416	0,0545	0,00618
»	7	119	8,700	0,6041	0,0694	0,00507
Marzo	10	170	14,200	0,7310	0,0514	0,00430
»	7	98	10,800	0,5688	0,0526	0,00580

Riassumendo:

Numero complessivo delle rane **67**
Peso medio di ciascuna rana gr. **16,50**
Peso medio di ciascun fegato gr. **1,385**
Quantità media di glicogene contenuta in un fegato **0,0958**
Quantità media di glicogene contenuta in un gr. di fegato **0,0714**
Quantità media di glicogene per gr. di animale vivo **0,00589**

Prima Serie. - Tab. N. 2.

Rane riscaldate per 24 h.

MESE	Num. delle rane	Peso delle rane espresso in gr.	Peso dei fegati espresso in gr.	Quantità totale di glicogene epatico espressa in gr.	Quantità di glicogene per gr. di fegato	Quantità di glicogene per gr. di animale vivo
Dicembre . .	7	120	8,600	0,6886	0,0800	0,00574
»	7	140	7,400	0,6685	0,0903	0,00477
»	5	105	6,000	0,5887	0,0981	0,00560
Gennaio . . .	7	140	9,300	0,7768	0,0835	0,00554
»	8	100	8,000	0,5007	0,0626	0,00500
Febbraio . .	9	120	12,100	0,5666	0,0468	0,00472
»	7	120	6,500	0,4004	0,0616	0,00333
Marzo	10	170	13,300	0,6685	0,0502	0,00394
»	7	90	7,150	0,3862	0,0540	0,00429

Riassumendo:

Numero complessivo delle rane **67**
Peso medio di ciascuna rana gr. **16,49**
Peso medio di ciascun fegato gr. **1,169**
Quantità media di glicogene contenuta in un fegato **0,0782**
Quantità media di glicogene contenuta in un gr. di fegato **0,0697**
Quantità media di glicogene per gr. di animale vivo **0,00477**

Prima Serie. – Tab. N. 3.

Rane riscaldate per 48 h.

MESE	Num. delle rane	Peso delle rane espresso in gr.	Peso dei fegati espresso in gr.	Quantità totale di glicogene epatico espressa in gr.	Quantità di glicogene per gr. di fegato	Quantità di glicogene per gr. di animale vivo
Dicembre . .	7	120	6,600	0,5936	0,0900	0,00494
»	7	140	7,300	0,5458	0,0747	0,00390
»	5	106	6,000	0,4824	0,0804	0,00455
Gennaio. . .	7	140	7,200	0,3724	0,0517	0,00266
»	8	130	7,900	0,3348	0,0423	0,00257
Febbraio . .	9	125	8,000	0,4054	0,0506	0,00324
»	7	120	5,000	0,2474	0,0495	0,00206
Marzo	7	100	7,000	0,3407	0,0486	0,00340

Riassumendo:

Numero complessivo delle rane 57
Peso medio di ciascuna rana gr. 17,21
Peso medio di ciascun fegato gr. 0,964
Quantità media di glicogene contenuta in un fegato 0,0582
Quantità media di glicogene contenuta in un gr. di fegato 0,0609
Quantità media di glicogene per gr. di animale vivo 0,00342

Se noi confrontiamo adesso i dati riferentisi alle rane ernanti con quelli delle rane mantenute al caldo per un riodo di 24 o 48 ore, troviamo che si sono verificati co-

stantemente due fatti, vale a dire una diminuzione della quantità assoluta del glicogene e una diminuzione in peso dei fegati.

Il lavoro muscolare, che, come dissi, esercita una notevole influenza sul consumo del glicogene, non può essere invocato, nel caso speciale, per spiegare, almeno in parte, la distruzione del glicogene che costatai negli animali su cui ho sperimentato. Con una assidua osservazione che mi era facile esercitare su questi, perchè li tenevo nella mia stanza da studio, potei convincermi che durante la permanenza di 24-48 ore in un ambiente a temperatura relativamente elevata, le rane se ne stavano perfettamente tranquille, il più delle volte ricoperte da un cumulo di sabbia umida, che mediante un preventivo riscaldamento era portata alla temperatura di 20°-25° C.

Escluso quindi il fattore contrazione muscolare, credo si possa ritenere, che la diminuzione del glicogene epatico, ch'io constatai nelle rane ibernanti artificialmente riscaldate, sia dovuta esclusivamente all'aumentata intensità dei fenomeni biochimici, che tien dietro all'innalzamento della temperatura esterna.

Questa diminuzione è progressiva e tale da ridurre, dopo 48 ore, a una metà circa la quantità del glicogene preesistente.

La perdita in peso dei fegati, la quale, e per le avvertenze che io seguii nella scelta delle rane, e per la notevole differenza dei pesi nei vari gruppi, e per la sua progressività, e per la costanza con cui si è manifestata, non si può attribuire semplicemente alle differenze individuali, coi risultati delle mie ricerche non può venire in modo esauriente interpretata.

Osservando le tabelle n. 1 e n. 2, cioè quelle riguardanti le rane d'inverno e le rane riscaldate per 24 ore, si ricava:

I° che i fegati diminuiscono di peso, in media, secondo il rapporto 100 : 84,40.

II° che la quantità assoluta di glicogene contenuta un fegato diminuisce secondo il rapporto 100 : 81,62.

III° che la quantità di glicogene, relativa a 1 gr. di gato, diminuisce secondo il rapporto 100 : 97,61.

Confrontando i valori della tabella n. 1 con quelli della tabella n. 3, vale a dire con quelli fornitici dalle rane riscaldate par 48 ore, troviamo:

I° che i fegati diminuiscono di peso, in media, secondo il rapporto 100 : 69,60.

II° che la quantità assoluta di glicogene contenuta in un fegato diminuisce secondo il rapporto 100 : 60,75.

III° che la quantità di glicogene, relativa a 1 gr. di fegato, diminuisce secondo il rapporto 100 : 85,29.

Dunque, nel mentre la perdita della quantità assoluta del glicogene è notevole, la quantità relativa, dopo 24 ore di riscaldamento, resta pressochè invariata, diminuendo dopo 48 ore sempre entro i limiti assai ristretti in confronto di quelli che ci denotano la rilevante distruzione della quantità assoluta.

Dato questo, la perdita assoluta di glicogene che noi abbiamo riscontrata, non è sufficiente per renderci conto della diminuzione in peso dei fegati; infatti la differenza fra il peso medio di ciascun fegato delle rane ibernanti e quello delle rane riscaldate è di gr. 0,216 per quelle tenute al caldo 24 ore, e di gr. 0,421 per quelle tenutevi per 48 ore, mentre la differenza della quantità di glicogene contenuta in un fegato è di gr. 0,0176 per le prime e di 0,0376 per le seconde. Da ciò siamo autorizzati a conchiudere, che nel fegato di una rana ibernante, collocata in un ambiente caldo, avviene, oltre che un consumo di una certa quantità di glicogene, anche la distruzione di altri componenti di esso. Per il fatto poi, che la quantità relativa del glicogene si mantiene pressochè invariata, possiamo aggiungere che la scomparsa del glicogene è proporzionale alla perdita di quella qualunque altra sostanza, che con esso va distrutta [1].

[1] I. Gaule, *Die Veränderungen des Froschorganismus während des Jahres.* (Pflüger's Arch., Bd. 87, 1901) studiando le differenze in peso di alcuni organi della rana, maschio e femmina, nei diversi mesi dell' anno, ha trovato, per il fegato, una diminuzione che va aumentando progressivamente durante il letargo e che continua per qualche tempo anche dopo di questo. L'A. attribuisce il fenomeno al fatto che, secondo le sue ricerche, il fegato sarebbe un organo deputato alla elaborazione non solo di alcuni materiali necessari al mantenimento dell' individuo, ma anche di quelli necessari alla formazione dei prodotti sessuali.

Quali dei componenti normali del fegato vadano perduti, oltre al glicogene, per effetto della temperatura, cercherò di stabilire con altre ricerche che già ho iniziate.

Dalle cifre esposte nella tabella n. 1, emerge un altro fatto che merita d'esser preso in considerazione. Se noi gettiamo uno sguardo sui valori relativi alla quantità di glicogene per gr. di fegato, troviamo che essi vanno mano a mano diminuendo e che anche nel mese di marzo, quando cioè dovetti sospendere qualunque ulteriore determinazione in causa del sopraggiungere della temperatura primaverile, nel fegato esiste una discreta quantità di glicogene.

Questi risultati, che collimano perfettamente con quelli ottenuti dal *Pflüger* e dall'*Athanasiu* (1), mentre confermano la progressiva perdita del glicogene epatico negli animali ibernanti coll'avanzarsi della stagione tiepida, negano l'assoluto consumo di esso al termine del periodo letargico.

Seconda Serie.

Dopo la celebre esperienza di *C. Bernard* (2), il quale con la puntura del IV° ventricolo, a livello dell'origine del pneumogastrico, ottenne una temporanea glicosuria, si venne a conoscere che la funzione glicogenica del fegato è sottoposta all'influenza del sistema nervoso. Il *Bernard* interpretò questa glicosuria come l'effetto di una alterazione del circolo sanguigno epatico. Successivamente venne dimostrato che parecchie altre lesioni del sistema nervoso centrale e di numerosi tronchi nervosi periferici potevano esser causa di una glicosuria, e questa, in conformità all'opinione espressa dal *Bernard*, veniva sempre attribuita ad una modificazione circolatoria del fegato.

Ma dopochè nel 1892 i fratelli *Cavazzani* (3), con la loro

(1) Pflüger, loc. cit.

(2) Cl. Bernard, *Leçons sur le système nerveux*, 1869.

(3) Fratelli Cavazzani, *Le funzioni del pancreas ed i loro rapporti e patogenesi del diabete*. Venezia, 1892.

scoperta dei nervi glicosecretori, confermata poi da *Morat* e *Dufourt* (1) (di nervi che stimolati determinano la formazione del glucosio dal glicogene anche dopo la morte dell'animale, quando ogni azione vasomotoria deve essere esclusa) hanno sancito quanto l'*Eckhard* e il *Vulpian* (2) avevano ipoteticamente formulato, per l'interpretazione della glicosuria consecutiva a lesioni nervose, si rendeva necessario di rivolgere l'attenzione, oltre che alle turbe vasomotorie, anche alla possibile esistenza di fibre specifiche per la funzione glicogenica nei tronchi nervosi che direttamente o indirettamente si portano al fegato.

Rispetto al vago, il quale forma l'argomento delle mie ricerche, fu dimostrato dall'*Eckhard* (3), che la faradizzazione del moncone centrale determina la comparsa della glicosuria, e in seguito fu dimostrato che può determinarla anche lo stimolo del moncone periferico.

Il primo di questi fenomeni, come ben si comprende, parla solo in favore di un'azione riflessa del vago; il secondo veniva considerato sempre in rapporto all'esistenza nel vago stesso di fibre vasomotorie. A proposito di questa azione vasomotoria del vago, devo notare che gli autori non sono concordi nel definirla; la ragione di ciò molto probabilmente è dovuta alla presenza nel nervo vago di fibre vasodilatatrici per il sistema portale e di fibre vasodilatatrici e vasocostrittrici per l'arteria epatica, come dimostrarono per primi il *Cavazzani* e il *Manca* (4).

A riconoscere che col vago decorrono anche fibre specifiche glicosecretorie fu il *Butte* (5), il quale, avendo già prima in collaborazione coll'*Arthaud* (6) dimostrato sui cani che alla

(1) Morat e Dufourt, Lyon médical, 1894.

(2) Vulpian, *Leçons sur l'appareil vasomoteur*. Paris, 1878.

(3) Eckhard, Beiträge zur Anat. u. Physiol., VIII, 1879.

(4) E. Cavazzani e G. Manca, *Contributo allo studio dell'innervazione del fegato*. (Arch. per le Scienze Mediche, 1894 (XVIII), 1895 (XIX)).

(5) Butte, *Action du nerf pneumogastrique sur la fonction glycogénique du foie*. (C. R. Soc. d. Biol., 1894).

(6) Arthaud et Butte, *Recherches sur les effets produits par la section des vagues au-dessus du diaphragme*. (C. R. Soc. d. Biol., 1889).

eccitazione di esso segue una enorme produzione di glucosio, più tardi la interpretò come dovuta ad una azione diretta del vago sulla glicogenesi epatica. Agli stessi risultati pervennero il *Levene* (1) e il *Dubois* (2), il primo sperimentando sui cani, il secondo sulle marmotte.

Ma, contrariamente all' interpretazione data dai precedenti autori, nel 1894 *Morat* e *Dufourt* (3), avendo constatato che allo stimolo del vago tien dietro più spesso un arresto nella formazione dello zucchero e che solo di raro si verifica un aumento nella produzione del glucosio, conclusero che nel vago esistono due ordini di fibre, le une eccitatrici, le altre inibitrici della funzione glicogenica e che l' azione di queste ultime, di solito, prevale sull' azione delle prime.

Questo è quanto ci è noto intorno all' azione che esercita il vago sulla glicogenesi degli animali a sangue caldo, in generale.

Nella ricerca bibliografica ch' io feci per conoscere se anche sulla glicogenesi epatica degli animali a sangue freddo, e più specialmente delle rane, il vago esplica una qualche azione, non trovai alcun lavoro sperimentale a questo scopo indirizzato.

Solo il *Couvreur* (4), il quale riconduce le modificazioni della funzione glicogenica del fegato, osservate dopo il taglio dei vaghi negli animali a sangue caldo, all' asfissia che succede all' atto operativo, suppone che la recisione di questi nervi debba rimanere senza alcun effetto nella rana, in cui l' asfissia viene a mancare perchè dispone della respirazione cutanea.

Tale essendo lo stato della questione, mi sono proposto di indagare di quali modificazioni fosse causa il taglio del vago nella glicogenesi epatica della rana, e quale parte prendesse questo nervo su quella diminuzione di glicogene che

---

(1) Levene, *Die zuckerbildende Function der N. Vagus.* (Centralbl. f. Physiol., VIII, 1894).

(2) Dubois, *Variations du glycogène du foie ecc.* (C. R. Soc. d. Biol., 1894

(3) Morat e Dufourt, *Action du nerf pneumogastrique sur la glycogenese.* (Arch. d. physiol. norm. et path., 1894).

(4) Couvreur, *Sur la cause des troubles de la fonction glycogénique consecutifs à la section des vagues.* (C. R. Soc. d. Biol., 1891).

abbiamo visto precedentemente succedere ad un aumento della temperatura esterna.

Le esperienze, a tal proposito da me instituite, furono fatte nei mesi di gennaio, febbraio e marzo.

Scelte le rane, attenendomi scrupolosamente alle norme già indicate per quelle della Prima Serie, le ho così suddivise:

I° gruppo. — Per conoscere se il trauma poteva esercitare una influenza sulla quantità del glicogene epatico, in queste rane mettevo allo scoperto i nervi vaghi senza poi reciderli; le lasciavo quindi nelle identiche condizioni di quelle del gruppo successivo.

II° gruppo. — Rane con vaghi tagliati esposte al freddo per 24 o 48 ore.

III° gruppo. — Rane con vaghi tagliati esposte alla temperatura di 20°-25° C. per un periodo di 24 ore.

IV° gruppo. — Rane con vaghi tagliati esposte alla stessa temperatura per un periodo di 48 ore.

Ho eseguita la ricerca, e quindi il taglio bilaterale del vago, in corrispondenza della regione dorsale laterale della rana.

Sarebbe stato possibile, e forse anche più facile, procedere ventralmente alla rana stessa; ma due ragioni specialmente mi dissuasero dal farlo e cioè la necessità, in questo caso, di fissare ad un tavolo l'animale, e, in secondo luogo, la gravezza dell'atto operativo.

Infatti avrei dovuto ricercare il nervo molto profondamente, al di sotto della clavicola, ciò che, oltre alla considerevole ampiezza della ferita, porta con sè la necessità di ledere parecchi vasi sanguigni, relativamente piccoli, e il facile pericolo di offendere qualche grosso vaso. Si comprende facilmente come la perdita di un'abbondante quantità di sangue avrebbe potuto alterare il significato dei miei risultati.

Per ciò ho preferito di tenere l'altra via.

Fatta un'incisione cutanea orizzontale subito al di sopra del margine superiore della scapola, fra la doccia vertebrale e il margine inferiore della membrana del timpano, avendo cura di rispettare il grosso vaso che attraversa longitudi-

nalmente questa regione, incisa la fascia dorsalis e divaricati alcuni fascetti delle fibre muscolari sottostanti, comparisce tosto il nervo vago che si riesce a seguire per un certo tratto del suo decorso, e che quindi si può recidere in un punto relativamente discosto dai centri nervosi d'origine. Spesso, anche operando in tal modo, per la ristrettezza del campo, riesce inevitabile una profusa emorragia. Io però ho avuto cura di escludere dall'esperimento le rane nelle quali si fosse verificato questo fatto.

Le rane così operate e che, dico subito, non davano segno della benchè minima sofferenza, venivano poste nei soliti recipienti di vetro. Le modalità di tecnica successive e quelle per la determinazione quantitativa del glicogene epatico sono identiche a quelle descritte nel capitolo precedente [1].

[1] I fegati delle rane con vaghi tagliati ed esposte alla temperatura invernale non presentano alcuna alterazione macroscopica; quelli invece delle rane, pure con vago tagliato, ma esposte alla temperatura di 20°-25° C, si presentano un po' più piccoli del normale, di un colorito bianco grigiastro, talora uniforme, talora interrotto da qualche zona di colore più oscuro, marezzati da una fine arborizzazione vasale, untuosi al tatto.

Seconda Serie. - Tab. N. I.

Rane ibernanti sottoposte al semplice trauma.

MESE	Num. delle rane	Peso delle rane espresso in gr.	Peso dei fegati espresso in gr.	Quantità totale di glicogene epatico espresso in gr.	Quantità di glicogene per gr. di fegato	Quantità di glicogene per gr. di animale vivo
Gennaio. . .	5	98	8,500	0,6454	0,0759	0,00658
»	5	90	6,400	0,6063	0,0947	0,00673
Febbraio . .	5	140	9,000	0,6349	0,0705	0,00458
»	5	135	10,200	0,7331	0,0718	0,00543
Marzo	5	130	7,000	0,4900	0,0700	0,00377

Riassumendo:

Numero complessivo delle rane 25
Peso medio di ciascuna rana gr. 23,72
Peso medio di ciascun fegato gr. 1,644
Quantità media di glicogene contenuta in un fegato 0,1243
Quantità media di glicogene contenuta in un gr. di fegato 0.0765
Quantità media di glicogene per gr. di animale vivo 0,00540

Seconda Serie. – Tab. N. 2.

Rane ibernanti con vaghi tagliati.

MESE	Num. delle rane	Peso delle rane espresso in gr.	Peso dei fegati espresso in gr.	Quantità totale di glicogene epatico espressa in gr.	Quantità di glicogene per gr. di fegato	Quantità di glicogene per gr. di animale vivo
Gennaio . . .	5	99	8,800	0,6265	0,0711	0,0063
»	5	90	6,000	0,5789	0,0965	0,0064
Febbraio . .	5	145	10,900	0,8307	0,0762	0,0057
»	5	181	9,000	0,5927	0,0658	0,0045
Marzo	5	130	7,200	0,4689	0,0651	0,0036

Riassumendo:

Numero complessivo delle rane **25**
Peso medio di ciascuna rana gr. **23,8**
Peso medio di ciascun fegato gr. **1,676**
Quantità media di glicogene contenuta in un fegato **0,1299**
Quantità media di glicogene contenuta in un gr. di fegato **0,0749**
Quantità media di glicogene per gr. di animale vivo **0.0053**

Seconda Serie. - Tab. N. 3.

Rane con vaghi tagliati riscaldate per 24 h.

MESE	Num. delle rane	Peso delle rane espresso in gr.	Peso dei fegati espresso in gr.	Quantità totale di glicogene epatico espressa in gr.	Quantità di glicogene per gr. di fegato	Quantità di glicogene per gr. di animale vivo
Gennaio . .	5	100	4,300	0,2811	0,0653	0,00280
»	5	90	3,000	0,1305	0,0435	0,00140
Febbraio . .	5	140	3,900	0,1081	0,0277	0,00077
»	5	130	6,000	0,1921	0,0320	0,00147
Marzo	5	125	4,000	0,0989	0,0247	0,00079

Riassumendo:

Numero complessivo delle rane **25**
Peso medio di ciascuna rana gr. **23,4**
Peso medio di ciascun fegato gr. **0,848**
Quantità media di glicogene contenuta in un fegato **0,0324**
Quantità media di glicogene contenuta in un gr. di fegato **0,0380**
Quantità media di glicogene per gr. di animale vivo **0,0014**

Seconda Serie. - Tab. N. 4.

Rane con vaghi tagliati riscaldate per 48 h.

MESE	Num. delle rane	Peso delle rane espresso in gr.	Peso dei fegati espresso in gr.	Quantità totale di glicogene epatico espressa in gr.	Quantità di glicogene per gr. di fegato	Quantità di glicogene per gr. di animale vivo
Gennaio . .	5	99	4,400	0,2061	0,0468	0,00208
»	5	100	3,500	0,1282	0,0366	0,00128
Febbraio . .	5	145	5,000	0,1168	0,0233	0,00080
»	5	135	4,200	0,1620	0,0385	0,00120
Marzo	5	130	3,800	0,1153	0,0303	0,00088

Riassumendo:

Numero complessivo delle rane **25**
Peso medio di ciascuna rana gr. **24,36**
Peso medio di ciascun fegato gr. **0,836**
Quantità media di glicogene contenuta in un fegato **0,0291**
Quantità media di glicogene contenuta in un gr. di fegato **0,0351**
Quantità media di glicogene per gr. di animale vivo **0,00125**

Anzitutto dalle tabelle n. 1 e 2 di questa seconda serie appare evidente che il trauma non esercita alcuna influenza sulla funzione glicogenica del fegato; confrontandole colla tabella n. 1 della prima serie, si ricava che il taglio dei nervi vaghi, per sè stesso, non ha alcun effetto, o quasi, sulla glicogenesi epatica della rana ibernante, almeno nelle 24 o 48 (successive all' operazione.

In fine nelle tabelle risguardanti le rane cui sia st. tagliato il vago e successivamente siano state portate in u

atmosfera calda, noi vediamo verificarsi una perdita rapida di glicogene ben più rilevante, che non nelle rane le quali si trovino nelle stesse condizioni d'ambiente, ma a vago integro; in queste, la diminuzione della quantità assoluta del glicogene si verifica, in media, secondo i rapporti 100 : 81,62 nelle rane riscaldate per 24 ore e 100 : 60,75 nelle rane riscaldate per 48 ore; e la diminuzione della quantità relativa secondo i rapporti 100 : 97,61 per le prime e 100 : 85,29 per le seconde; in quelle invece si trovano per la quantità assoluta i rapporti 100 : 26,15 e 100 : 23,49, e per la quantità relativa 100 : 51,53 e 100 : 46,85, a seconda che le rane vengono riscaldate per 24 o 48 ore.

Stabiliti così i fatti veniamo a qualche considerazione.

Senza ricorrere ad altri concetti per spiegare l'effetto nullo del taglio del vago sulla glicogenesi delle rane ibernanti, credo che esso si debba ascrivere a quello stato di torpore funzionale in cui sono immersi tutti gli organi della rana in letargo. Già a priori era prevedibile che, lavorando questi assai poco, perchè esigui sono i bisogni, essi non avrebbero potuto risentire l'influenza immediata della soppressione dell'azione nervosa.

Era da supporre invece, ciò che i risultati delle mie ricerche sono venuti a confermare, che la mancanza del sistema nervoso si sarebbe esplicata quando l'intensità dei processi vitali si fosse accresciuta. Ed infatti noi vedemmo, come per il semplice effetto di un innalzamento di temperatura si sia manifestata una determinata perdita di glicogene, mentre che, tolta l'azione del vago, la diminuzione del glicogene in causa della temperatura stessa si sia resa più sensibile.

Da tutto ciò emerge, che nel vago esistono fibre nervose le quali influiscono in una maniera speciale sulla glicogenesi epatica. Per interpretare come esse agiscono, è necessario ricordare le teorie con le quali viene spiegata la trasformazione del glicogene epatico in glucosio.

Due sono le dottrine che oggi giorno si contendono il campo a questo riguardo.

La prima, la più vecchia, considera il fenomeno della

formazione dello zucchero dal glicogene come un fenomeno passivo, dovuto cioè all' azione di un fermento circolante col sangue; la seconda, accettata oggi dai più, considera questa trasformazione come un fenomeno attivo, cioè come un prodotto del metabolismo del parenchima epatico.

Per renderci ragione della perdita del glicogene che si effettua nella rana artificialmente riscaldata, dopo il taglio del vago, perdita che è di gran lunga superiore a quella che abbiamo constatata nelle rane a vago integro, informandosi ai concetti sopra esposti, si comprende facilmente, che, accettando la prima di queste teorie, è necessario ricorrere all' azione vasomotoria del vago, e che accettando invece la seconda, dobbiamo ammettere un' azione diretta del vago stesso sulla cellula epatica.

Ora, perchè è molto dubbia la formazione dello zucchero per opera di un enzima speciale sul glicogene, e perchè, supposto che nella rana si verifichi quanto fu dimostrato sui cani, la risultante dell' azione vasomotoria del vago sul fegato sarebbe quasi nulla, io credo, appoggiato in ciò anche dalle ricerche di *Morat* e *Dufourt* (1), che il vago eserciti veramente un' azione diretta sul parenchima del fegato della rana e che questa azione sia, almeno prevalentemente, inibitrice della funzione protoplasmatica per cui avviene la trasformazione del glicogene in glucosio.

Prendendo in esame i valori dei tre gruppi di rane con vago tagliato e precisamente la quantità di glicogene per grammo di animale vivo, osserviamo che mentre le cifre riguardanti le rane riscaldate per 24 ore stanno ad indicarci una notevole scomparsa di glicogene, esse non differiscono molto da quelle che ci vennero fornite dalle rane mantenute al caldo per 48 ore: è evidente quindi che la trasformazione del glicogene, avvenuta da prima rapidamente, si è poi fermata o per lo meno rallentata, che, in altre parole, fu re' tiva alla quantità del glicogene accumulato.

(1) Morat e Dufourt, loc. cit.

Istituto di Patologia generale di Firenze, diretto dal Prof. A. Lustig.

SULLE CELLULE GIGANTI DA CORPI ESTRANEI.

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

DOTT. AUGUSTO FRANCHETTI.

I. — Brevi cenni generali intorno alle cellule giganti.

Le cellule giganti costituiscono uno dei più interessanti elementi dei tessuti specialmente patologici. Oltre alle cellule giganti del midollo che ne rappresentano il tipo nei tessuti normali, noi conosciamo quelle dei tessuti di neoformazione, d' origine infettiva (tubercoli ecc.) o neoplastica (sarcomi), e del tessuto di granulazione (nella riparazione delle perdite di sostanza); infine le così dette *cellule giganti da corpi estranei*, alle quali, secondo alcuni, appartengono in parte le cellule giganti dei tumori.

Sono innumerevoli le osservazioni sulla produzione di cellule giganti per azione dello stimolo portato dalla presenza nei tessuti di corpi estranei; sono stati usati in queste esperienze i corpi più vari per costituzione chimica e fisica; fra gli altri molti corpi porosi (spugna, midollo di sambuco, sughero, imbevuti o no di varie sostanze) o filamentosi (peli, seta, cotone), frammenti di tessuti induriti; vetro, ossa, polveri ecc., i quali tutti venivano introdotti per lo più sotto la cute o nelle grandi cavità sierose degli animali da esperimento.

I resultati di tali ricerche, tenendo conto delle varie quistioni riguardanti le cellule giganti, si potrebbero brevemente riassumere nel modo seguente:

a) *Per l'origine* si è ammessa una derivazione delle cellule giganti da varie specie di cellule: cellule bianche del sangue (*Arnold*, *Ziegler* ecc.), cellule del connettivo, endoteli, epiteli (*Weiss*, *E.* ed *F. Marchand*, *Bungner* ecc.); si è detto che esse (nel tubercolo) non sono che sezioni di vasi linfatici, o accumuli di detriti, oppure germi ipertrofici di capillari neoformati (*Brodowsky*).

b) *Per il modo di formazione* si parla di fusione o confluenza di più cellule (*Ziegler*, *Marchand* e altri); di moltiplicazione del nucleo senza successiva divisione del protoplasma (*Virchow*), di aumento di volume per assunzione o inglobamento di altre cellule integre o di parti di cellule disfatte (*Ziegler* ecc.). Alcuni ammettono una moltiplicazione nucleare per cariocinesi, altri per divisione diretta o frammentazione (*Arnold*).

c) Il *volume* delle cellule giganti, essendo sempre abbastanza considerevole, è soggetto a varie oscillazioni. La *forma* è variabilissima.

d) Mutevole è pure *l'aspetto e il numero dei nuclei*, essi in generale sono molti, grandi, chiari; per la posizione si distinguono i nuclei periferici (tipo di *Langhans*, nel tubercolo) da quelli centrali o senza situazione speciale.

e) Il *significato e la funzione delle cellule giganti* sono ancora discussi, per certi autori esse sono l'espressione di un fatto regressivo, sono elementi in via di degenerazione; per altri rappresentano elementi attivi, mobili, dotati di capacità fagocitarie e destinati all'assorbimento del corpo estraneo.

f) Quanto all'*esito definitivo* a cui vanno incontro queste cellule si è detto da alcuni che possono trasformarsi in tessuto connettivo adulto per un differenziamento fibrillare del protoplasma (*Tillmans*); da altri si sostiene che vanno sempre incontro a metamorfosi regressiva (degenerazione grassa, disfacimento granulare) e a necrosi (*Weiss*, *Hammerl*, *Bungner*) ecc.

g) Il *modo di agire dello stimolo* che provoca la formazione delle cellule giganti è secondo i vari autori differente; alc credono che lo stimolo sia capace di provocare la divisi del nucleo, ma insufficiente a produrre quella del proto

sma (*Virchow*). Altri riconoscono nel corpo estraneo un'azione chemiotattica positiva, che farebbe confluire intorno ad esso più cellule (*Ribbert*). Secondo il *Weiss* i protoplasmi, rammolliti per azione dello stimolo, tenderebbero a fondersi.

Anche alle qualità fisiche del corpo estraneo si è data importanza, mettendo in rapporto la resistenza e la difficoltà del suo assorbimento colla produzione delle cellule giganti (*F. Marchand*, *Bungner* ecc.).

Si ammette inoltre che non solo lo stimolo meccanico, ma anche quello chimico (o tossico) possa dar luogo alla formazione di queste speciali cellule; come è dimostrato dalla loro presenza nelle neoproduzioni infettive (tubercolo, gomma) e in vicinanza di tessuti necrotici (*Foà*), che non sempre possono offrire qualità fisiche tali da far pensare ad un difficile assorbimento (tessuto epatico necrotico) e quindi ad una stimolazione meccanica paragonabile a quella provocata da un corpo estraneo.

Essendo ancora in parte dubbie e controverse le varie quistioni riguardanti la conoscenza delle cellule giganti, ho voluto ripetere alcune delle esperienze in proposito, nell'intento di aggiungere qualche altro dato ai tanti già raccolti sull'argomento.

II. — Ricerche sperimentali.

Come animali da esperimento ho usato cavie e conigli, nei quali introducevo il corpo estraneo o nella cavità peritoneale o nello spessore del fegato; come *corpi estranei* ho adoperato quasi esclusivamente le spugne, perchè mi è parso che si prestassero meglio degli altri corpi: per la loro porosità offrono un conveniente sostegno al tessuto di nuova formazione e insieme sono abbastanza resistenti all'assorbimento per potere agire anche lungo tempo.

Ho usato pure qualche volta il midollo di sambuco e anche la paraffina dura (a 60° C.) la quale aveva il vantaggio di potersi sciogliere (collo xilolo) in modo che risultavano

delle cavità nel luogo da essa occupato, e si vedeva chiaramente il tessuto formatosi intorno. Rammento fin d'ora che i resultati ottenuti col midollo di sambuco non differivano da quelli dati dalla spugna.

I pezzetti di spugna, al massimo di un mezzo centimetro di diametro, erano rammolliti col soggiorno prolungato in una soluzione di acido nitrico e cloridrico, lavati per più giorni abbondantemente in acqua corrente e sterilizzati più volte colla ebollizione in acqua distillata.

I pezzetti di paraffina erano circa del medesimo volume e si cercava che la superficie ne fosse il più possibile scabra e anfrattuosa, perchè così più facilmente avveniva la loro adesione ai tessuti; essi erano sterilizzati tenendoli a lungo in una soluzione di acido fenico e poi lavati abbondantemente in acqua distillata e sterilizzata.

A. — Introduzione di spugne nella cavità peritoneale.

L'animale era fissato al tavolo operatorio e la superficie anteriore dell'addome veniva accuratamente rasata e disinfettata con acqua calda e sapone e soluzione di sublimato; poi si faceva un piccolo taglio sulla linea mediana nella parete addominale e s'introducevano nella cavità peritoneale due o tre pezzetti di spugna o di paraffina; la ferita era quindi suturata e coperta con cotone e collodione; cercando di usare le debite cautele antisettiche, si otteneva nel maggior numero dei casi una guarigione per *primam* della ferita operatoria. Non ho tenuto conto di quei casi che decorsero con suppurazione, e tanto meno con peritonite mortale.

Gli *animali così trattati*, che furono 30, erano sacrificati a intervalli di tempo regolari e si ricercava nella loro cavità peritoneale il corpo estraneo, il quale aveva contratto aderenza colla parete addominale, o coi visceri, o coi foglietti peritoneali (mesenteri, epiploon, ecc.) e si asportava insieme col punto di adesione. Nei casi che datavano da qualche tem[illegible] il corpo estraneo si trovava spesso completamente involto in [illegible] tessuto di nuova formazione, oppure non se ne trovò più tracc[illegible]

Per l'esame microscopico i pezzi erano fissati in soluzione satura di sublimato o in alcool e nel liquido di *Flemming*; inclusi in paraffina e le sezioni colorate con la colorazione doppia dell'ematossilina alluminata ed eosina; colla safranina quelle dei pezzi fissati in liquido di *Flemming*, allo scopo specialmente di mettere meglio in evidenza le figure cariocinetiche.

Descrizione dei preparati. — I fenomeni che si osservano nel corpo estraneo (occupandoci per ora delle spugne) per quanto riguarda le cellule giganti, si possono brevemente riassumere nel modo seguente.

Negli animali sacrificati nel primo o nel secondo giorno dopo l'operazione il frammento di spugna ha già preso leggera aderenza colle parti vicine, e all'esame microscopico si vede uniformemente occupato da una rete di fibrina i cui filamenti congiungono fra loro le trabecole della spugna (che in sezione appaiono come grandi masse rotonde od ovali tinte intensamente con l'ematossilina o con la safranina): risulta così un intreccio molto complicato il quale contiene nelle sue maglie delle cellule; sono in prevalenza cellule piccole, rotonde, con protoplasma omogeneo, che nei preparati trattati colla safranina non assume il colore; possiedono più nuclei tinti uniformemente e intensamente, hanno tutti i caratteri dei comuni leucociti polinucleati: insieme con questi si trova qualche leucocito mononucleato e qualche globulo rosso, per lo più alterato nella forma: alcuni leucociti mostrano il nucleo disfatto in granuli cromatici; son cellule in via di distruzione.

Anche i tessuti vicini, ai quali il frammento di spugna aderisce, lasciano riconoscere un notevole infiltramento parvicellulare; mentre le parti del frammento medesimo rimaste libere sono avvolte anche esse da fibrina disposta in una massa fittamente reticolata.

Al terzo giorno dall'operazione, nel pezzo di spugna si trova sempre abbondanza di fibrina e di leucociti, ma osservandone le parti più periferiche si vedono occupate da altre cellule con caratteri molto differenti da quelli dei leucociti;

sono più grandi, di varia forma, poligonali, affusate; con prolungamenti spesso anastomizzati con quelli delle cellule vicine, e che formano quasi degli anelli attorno alle trabecole della spugna; il loro protoplasma è ben colorito e granuloso; il nucleo è ovale o allungato, grande, chiaro, con reticolo cromatico, e uno o più nucleoli evidenti, in alcune ha un aspetto vescicoloso. Tali cellule vengono a contatto delle trabecole, oppure le circondano ad una certa distanza; si vede che esse si continuano col connettivo del peritoneo; non si può invece riconoscere l'endotelio peritoneale, probabilmente prende parte anch'esso alla formazione di questo nuovo tessuto che invade le zone più periferiche del corpo estraneo e nel quale si trovano ancora dei leucociti, specialmente polinucleati. Addossato ad alcune delle trabecole della spugna si osserva, sempre nelle parti periferiche, un ammasso di nuclei con i caratteri di quelli delle cellule per ultimo descritte, e circondati da scarso protoplasma; queste formazioni sono abbastanza simili a quelle che, negli stadi successivi, costituiranno delle tipiche cellule giganti.

Gli elementi cellulari che si osservano nelle parti periferiche del frammento di spugna corrispondono per i loro caratteri alle cellule conosciute col nome di *cellule di granulazione*, *cellule germinali* o *formative*, *cellule epitelioidi*, *fibroblasti*, che si trovano comunemente nei tessuti di granulazione, e si differenziano assai bene per le proprietà del protoplasma e del nucleo dai leucociti d'origine vasale, che occupano le parti più centrali della spugna.

Nei preparati ottenuti da animali uccisi quattro o cinque giorni dopo l'operazione, si trovano ancora le parti più centrali del frammento di spugna piene di leucociti e fibrina insieme con un detrito granulare e cellule in disfacimento; ma le parti più vicine alla periferia son già occupate da un vero tessuto connettivo fibrillare giovane, ricco di cellule, disposto in modo da circoscrivere degli spazi rotondi il cui centro è occupato da una trabecola o è vuoto, probabilmente perc la trabecola è caduta nel fare la sezione. Spesso in questi sp si vedòno delle cellule giganti tipiche che li riempiono tut

in parte e possono presentare un lato incavato che abbraccia una trabecola; di tali cellule se ne trovano anche circondate da connettivo e apparentemente non in rapporto col corpo estraneo, esse prendono le forme più varie; se la trabecola a cui si appoggiano è sezionata longitudinalmente allora appaiono allungate e strette; per lo più sono irregolarmente sferiche od ovali. Hanno protoplasma granuloso, colorato più intensamente di quello delle cellule vicine, e molti nuclei che nella maggior parte dei casi sono centrali o un po' eccentrici e disposti come a grappolo, a contatto e sovrapposti fra loro; sono somiglianti a quelli delle cellule connettive circostanti, cioè chiari, vescicolosi, con reticolo cromatico, nucleoli e membrana nucleare evidenti, non sono mai intensamente e uniformemente colorati come quelli dei leucociti. Di questi se ne vede ancora nel connettivo. Fra le cellule di granulazione che formano quest'ultimo tessuto alcune mostrano due o più nuclei ravvicinati e anche per il loro volume costituiscono quasi una forma di passaggio alle cellule giganti tipiche.

Gli stessi fatti si verificano anche più evidenti nei preparati di sette giorni; si può osservare che intorno ad una trabecola di spugna si trovano talvolta due o tre cellule giganti, che possono essere anche parzialmente in contatto fra loro; in altri casi ne esiste una sola, ma più grande, che fa l'impressione come se risultasse dalla fusione di altre due cellule, perchè in qualche luogo si vede ancora come una linea che segna il punto di unione di due elementi. In alcune cellule giganti son contenuti dei leucociti ancora ben conservati evidentemente inglobati dal corpo cellulare (Fig. II).

Queste cellule del resto hanno i caratteri già descritti, solo che si può vedere in qualcheduna una struttura tipicamente vacuolare del protoplasma, che appare come fatto di una schiuma finissima, tutto a bollicine; talvolta contiene vacuoli più grandi. I nuclei, anche numerosissimi (alcune diecine), di rado sono in posizione marginale, per lo più son riuniti in ammassi o raccolti in un punto della cellula, oppure son sparsi a modo da riempirla tutta.

Anche in questi preparati la spugna è circondata da uno

strato di connettivo giovane che penetra nelle sue parti più esterne, invece in quelle centrali esistono sempre abbondanti leucociti e fibrina; nel connettivo oltre le cellule epitelioidi o di granulazione, si vedono altri elementi cellulari meno numerosi, affusati, con nucleo allungato e più intensamente colorato di quello delle cellule di granulazione; di queste ultime alcune mostrano delle figure cariocinetiche.

Il numero delle cellule giganti cresce col tempo e, per esempio, dopo dodici giorni si trovano abbondantissime; sono ancora circondate da elementi giovani di connettivo e si può notare che mentre alcune volte esse sono quasi isolate dentro ad un anello connettivale, in altri casi si congiungono per mezzo di prolungamenti con le cellule vicine, così che i loro limiti verso il tessuto ambiente son poco netti; quanto ai rapporti colle trabecole della spugna si osserva che quasi ogni trabecola ha vicina una cellula gigante; ma di queste se ne trovano anche molte che non hanno nessun contatto col corpo estraneo.

Nei preparati più antichi (17, 25, 30 giorni) si vedono sempre molto abbondanti le cellule giganti; e si può credere che continui la loro formazione perchè ancora si notano degli aggruppamenti di pochi nuclei circondati da masse di protoplasma, in numero di due o tre intorno ad una trabecola, e sul punto di confluire insieme per costituire una cellula unica più voluminosa. Il connettivo circostante oramai ha invaso tutta la spugna e nelle parti più esterne va acquistando l'aspetto di connettivo adulto, facendosi più abbondanti le fibre rispetto alle cellule; dei leucociti polinucleati non se ne vedono quasi punti e scarsi sono pure i mononucleati con nucleo rotondo (linfociti). Il connettivo contiene vasi neoformati. Un fatto che si nota in alcuni preparati più antichi è il presentarsi delle trabecole di spugna come smangiate; ma non potrei attribuirlo con certezza ad un principio di assorbimento, forse è un effetto accidentale prodotto dalla sezione.

Senza voler trarre per ora delle conclusioni definitive, desume da ciò che è stato esposto, che nei frammenti di sp gna introdotti nella cavità peritoneale si formano delle cell

giganti, le quali assomigliano per molti caratteri alle cellule connettivali di granulazione e sembrano da esse derivare.

B. — Introduzione di frammenti di paraffina nella cavità peritoneale.

La formazione di cellule giganti si ottiene anche intorno ai pezzetti di paraffina introdotti nella cavità peritoneale; in questo caso però il corpo estraneo impiega un tempo più lungo ad incapsularsi e difficilmente si riesce a fare delle osservazioni nei primi giorni perchè la paraffina si trova ancora libera nella cavità peritoneale, o ricoperta di uno strarello così sottile di tessuto che malamente si può sottoporre a tutti i trattamenti necessari senza alterarlo.

Descrizione dei preparati. — In un preparato di un animale ucciso cinque giorni dopo l'introduzione del corpo estraneo, si può vedere la paraffina, o meglio lo spazio da essa occupato, (perchè la paraffina è stata sciolta dai reagenti) circondato da un anello di connettivo giovane infiltrato di leucociti e contenente scarse cellule giganti; queste si fanno molto più evidenti dopo un tempo maggiore; così dopo dodici giorni, si vede la parete della cavità lasciata dalla paraffina costituita da connettivo tipicamente fibrillare che, nella parte più interna, verso il lume della cavità, è formato in prevalenza da cellule di granulazione con uno o più nuclei; nello spessore della parete esistono altri spazi vuoti, dovuti probabilmente alle anfrattuosità della superficie della paraffina, i quali spazi son circondati da cellule giganti di forma molto irregolare, che evidentemente si adattavano alla forma delle particelle di paraffina, e mandavano prolungamenti fra di esse. Formazioni perfettamente simili a queste si vedono in un preparato di ventun giorno, nel quale le cellule giganti con molti nuclei, che limitano gli spazi vuoti, già occupati dalla paraffina, mostrano le disposizioni e le forme più strane e irregolari (Fig. IV).

Quanto ai minuti caratteri istologici delle cellule connettivali e delle cellule giganti di tali preparati, essi sono identici a quelli che abbiamo descritti nei frammenti di spugna; appare chiaro che tanto questa come la paraffina

agiscono assolutamente nello stesso modo, fatta astrazione dalla differente disposizione delle varie parti del tessuto, inerente alla forma diversa del corpo estraneo.

C. — Introduzione di spugne nel fegato.

In un'altra serie di esperienze, eseguite pure sulle cavie (10) e su 4 conigli, si introduceva il corpo estraneo (spugna) nel fegato. A questo scopo, nella parete addominale anteriore, si faceva un taglio subito al disotto dell'arcata costale destra e da esso si tirava fuori in parte il lobo destro del fegato; su questo, per mezzo della punta di un bisturì o di una sonda, si praticava una piccola incisione nella quale veniva introdotto un frammento di spugna di volume assai inferiore a quelli introdotti nella cavità peritoneale; si rimetteva in posto il lobo epatico, cercando di evitare che il sangue sgorgante dalla incisione portasse via il frammento, e si suturava la ferita della parete addominale. Il più delle volte il corpo estraneo rimaneva così, tutto o in parte, incluso nel tessuto epatico la cui lesione cicatrizzava. Non potei usare in queste esperienze la paraffina perchè, data la sua superficie liscia, sfuggiva costantemente dalla ferita epatica.

Descrizione dei preparati. — Nei pezzi ottenuti in questo modo (e i resultati sono uguali nelle cavie e nei conigli) si vede all'esame microscopico la spugna circondata da tessuto epatico e piena, almeno nei primi giorni, del sangue di cui si era imbevuta al momento dell'operazione. Ma già dopo due giorni si osserva che le cellule proprie del fegato sono nettamente separate dalla spugna per mezzo di uno strato di cellule affusate o poligonali con nuclei allungati od ovali e con prolungamenti intrecciati fra loro a formare un tessuto fibrillare: le cellule hanno i caratteri di quelle del connettivo giovane e questo tessuto si continua col connettivo degli spazi portali del fegato; non tutto il frammento di spugna è oc pato da simili elementi perchè le parti centrali contengono reticolo irregolare di fibrina pieno di detriti cellulari e g buli rossi e bianchi prevalentemente polinucleati.

Dopo cinque o sei giorni nel connettivo che invade la periferia della spugna cominciano ad apparire cellule con due o più nuclei, e anche cellule giganti tipiche con nuclei ammucchiati che assomigliano a quelli delle giovani cellule connettivali, son chiari, grandi, con evidente reticolo cromatico, e sempre ben diversi da quelli dei globuli bianchi; non differiscono molto dai nuclei delle cellule epatiche, ma si può escludere che queste cellule concorrano alla formazione di cellule giganti, oltre che per il differente aspetto del protoplasma e la colorazione meno intensa del nucleo, anche per il fatto che il tessuto epatico è diviso dalle trabecole di spugna, fra le quali si trovano le cellule giganti, per mezzo di uno strato connettivale giovane. Nelle cellule epatiche non esistono segni di moltiplicazione; esse pare che rimangano inattive nel processo d'incapsulamento che si svolge intorno al corpo estraneo.

Nei preparati di data più antica (dieci, venti, trenta giorni) si vede lo strato di connettivo intorno alla spugna farsi sempre più grosso e acquistare i caratteri di connettivo adulto, invece il tessuto che occupa gli spazi fra le trabecole risulta ancora formato di cellule di granulazione e contiene cellule giganti; le quali sono identiche a quelle che si trovano nei frammenti di spugna introdotti nella cavità peritoneale e perciò non starò a descriverle; anche qui si può vedere quella smangiatura delle trabecole della spugna cui ho già accennato.

Gli elementi parenchimali del fegato non hanno dunque influenza nella produzione delle cellule giganti, le quali si formano anche in esso a spese del tessuto connettivo.

Ricorderò per incidenza che talora, durante l'introduzione del corpo estraneo nel fegato, accadde di ferire e contundere il tessuto epatico; in questi punti si trovavano alla necroscopia delle cicatrici biancastre che, esaminate al microscopio, risultavano di connettivo giovane, contenente qualche volta delle porzioni di tessuto epatico necrotico il quale appariva circondato da grosse cellule giganti del tutto simili a quelle provocate dalla presenza di corpi estranei. Questo fatto fu del resto osservato, come già ho detto, da vari autori.

III. — Riassunto e considerazioni.

Riassumendo in breve quanto risulta dalla precedente esposizione, si può dire che la introduzione di alcuni corpi estranei solidi nella cavità peritoneale e nel fegato delle cavie e dei conigli provoca la formazione di un vero tessuto di granulazione, analogo a quello che si produce nella riparazione delle perdite di sostanza: contenente, come questo, cellule giovani di connettivo, cellule bianche emigrate dal sangue e vasi neoformati; questo tessuto però offre di particolare una speciale abbondanza di elementi grandi polinucleati (cellule giganti) che contraggono rapporto colla superficie del corpo estraneo. Gli elementi specifici del fegato non prendono nessuna parte attiva alla sua formazione. Non esiste una differenza essenziale fra il tessuto neoformato che invade gli spazi anfrattuosi di un frammento di spugna e quello che circonda un piccolo pezzo di paraffina.

Le cellule giganti stanno spesso a contatto immediato col corpo estraneo e allora si adattano alla sua forma; ma spesso anche sono a una certa distanza, indipendenti da esso; questo fatto si può spiegare ammettendo che, dato il volume della cellula, la sezione sia caduta in un punto di essa lontano dal corpo estraneo; oppure che questi elementi siano dotati di mobilità e possano allontanarsi dal corpo medesimo, o infine che si formino nel tessuto anche indipendentemente da un contatto immediato.

Da quali elementi derivano le cellule giganti? Si può escludere che abbiano rapporto colla formazione dei vasi, perchè questi non sempre si trovano in prossimità di tali cellule; le quali si possono ancora vedere prima che sia evidente una neoformazione vasale. Prendono dunque origine dalle cellule di granulazione o dai leucociti. Sembra più attendibile l prima ipotesi; infatti, considerando ciò che avviene nei fran menti di spugna, si vede che nei primi stadi le cellule giga si trovano solo nelle parti più periferiche; i leucociti inve

occupano anche le parti centrali; anche le cellule di granulazione esistono solo alla periferia ed è appunto fra esse che stanno le cellule giganti, mentre non s'incontrano mai in mezzo ai leucociti. I nuclei delle cellule giganti sono chiari, grandi, d'aspetto vescicolare, con cromatina disposta a reticolo e a piccole zolle, con uno o più nucleoli ben evidenti, questo medesimo aspetto offrono i nuclei delle cellule di granulazione; i leucociti al contrario hanno uno o più nuclei di volume minore, intensamente e uniformemente colorati; e sarebbe difficile supporre che trasformandosi in cellule giganti cambiassero così profondamente i loro caratteri. Anche il protoplasma dei leucociti si differenzia per un aspetto più chiaro e omogeneo da quello delle cellule di granulazione e giganti che è d'apparenza granulosa o finamente vacuolare. Per queste ragioni ammetto dunque che le cellule giganti derivino dalle cellule di granulazione. Ma secondo alcuni autori anche le cellule di granulazione (germinative, epitelioidi) prendono origine, almeno in parte, da cellule bianche emigrate dai vasi sanguigni; in questo caso anche le cellule giganti avrebbero la medesima origine. La quistione è difficile a risolversi; io non ho mai veduto delle forme di passaggio da leucociti a cellule di granulazione e anche il fatto di trovar queste sempre nei punti più vicini ai tessuti preesistenti fa credere che esse derivino dalle cellule di questi ultimi, piuttosto che dagli elementi del sangue.

Una origine probabile delle cellule di granulazione, oltre che dalle cellule fisse del connettivo sottoendoteliale del peritoneo, è quella, da molti ammessa, dalle cellule endoteliali medesime; e si può credere che questo accada perchè nei punti in cui il corpo estraneo ha preso aderenza col peritoneo parietale o viscerale non si riesce più a distinguere le cellule endoteliali da quelle di granulazione; esse verosimilmente proliferano e prendon parte alla costituzione del tessuto neoformato.

Quanto alla *formazione delle cellule giganti* bisogna ammettere che non avvenga in un modo solo; si vedono delle cellule di granulazione con due o più nuclei molto ravvicinati che fanno pensare ad una moltiplicazione nucleare in

una cellula sola, senza consecutiva divisione del corpo protoplasmatico; ma si vedono pure degli elementi molto grandi risultanti dall' unione di altri di minor volume che vengono a contatto fra loro e anche si fondono parzialmente, come dimostra la mancanza di una linea netta di separazione; queste apparenze stanno molto probabilmente a provare che le forme più voluminose di cellule giganti siano il prodotto della confluenza di altre cellule già ingrossate e con più nuclei. Si può ammettere dunque che questi elementi si formino per divisione diretta del nucleo di una cellula, il cui corpo cellulare non si divide corrispondentemente; successivamente, ma non sempre, le cellule così formate potrebbero fondersi fra loro.

Non credo che il solo processo di formazione per confluenza di corpi cellulari basti a dar ragione dell' origine degli elementi in discorso, perchè non si può bene spiegare con esso il reperto frequente di un ammasso fittissimo di nuclei ammucchiati in una sola regione del protoplasma della cellula gigante; un tale ammasso dà proprio l' idea di una attiva e rapida divisione nucleare, i cui prodotti siano rimasti strettamente ravvicinati, e si comprenderebbe male con una fusione di cellule, i cui nuclei avrebbero dovuto tutti confluire in uno stesso punto e addossarsi in modo che quasi non rimanesse sostanza protoplasmatica tra l' uno e l' altro.

Figure cariocinetiche nelle cellule giganti non se ne osservano e quindi ammettendo una moltiplicazione nucleare, bisogna supporre che avvenga per divisione diretta, sebbene non si riescano a vedere nuclei nell' atto della scissione.

Un altro fattore di accrescimento delle cellule giganti è la assunzione di leucociti nel loro corpo cellulare; si trovano spesso nel protoplasma uno o più leucociti ben conservati, che verosimilmente sono stati inglobati dalla cellula dotata, come ammettono i più, di capacità fagocitarie.

Altre volte pare che due di queste cellule nell' unirsi insieme comprendano fra loro i globuli bianchi posti in mez Oltre alle cellule bianche intere si vedono, contenuti nel p toplasma, detriti cellulari in forma di zolle cromatiche o g nuli, raramente goccioline di grasso.

Quanto alla *posizione del nucleo* non si può rilevare che essa abbia qualche cosa di tipico; la regola, che alcuni vollero stabilire, per cui un corpo estraneo piccolo e centrale darebbe luogo a situazione periferica del nucleo e un corpo grande agendo perifericamente porterebbe ad una situazione opposta, non mi pare che si possa in ogni caso verificare.

Le trabecole della spugna che per il loro considerevole volume difficilmente e di rado sono circondate interamente da una sola cellula, dovrebbero agire facendo spostare i nuclei verso il polo opposto al punto di contatto; questo non accade in tutti i casi e molto spesso i nuclei sono sparsi irregolarmente nel protoplasma o aggruppati nel centro o da un lato, raramente hanno la posizione marginale tipica delle cellule giganti tubercolari.

Le ricerche fatte non mi permettono di trarre delle conclusioni definitive sul significato degli elementi cellulari in discorso, credo però di potere escludere la precoce loro degenerazione (grassa o granulare) verificata da alcuni autori; anche dopo un mese e più si osservano cellule giganti tipiche, senza nessun segno di fatti degenerativi, e neppure di trasformazione fibrillare in connettivo; probabilmente per lungo tempo, fino a che lo stimolo abnorme rimane, si verifica questa speciale produzione di cellule; in ultimo, se è possibile, il corpo estraneo verrà riassorbito, o circondato e invaso da connettivo adulto.

Sulla *funzione delle cellule giganti* e sull'intimo *meccanismo* di loro *produzione*, non si possono fare che delle ipotesi e molte ne sono state fatte, ma ci mancano per ora dati certi in favore dell'una piuttosto che dell'altra: non è illogico il pensare che esse rappresentino un mezzo di assorbimento del corpo estraneo, se l'assorbimento è possibile, oppure un tentativo fatto dagli elementi del tessuto se esso è impossibile. Che lo stimolo abnorme provochi una moltiplicazione eccessiva e rapida dei nuclei è anche probabile; non mi sembra invece giustificato il ritenere la formazione delle cellule giganti come l'espressione di un fatto regressivo nella vita della cellula, considerando specialmente che questi ele-

menti mostrano per molto tempo i caratteri di cellule vitali senza andare incontro precocemente a fenomeni di degenerazione.

Ma qui, ripeto, siamo nel campo delle ipotesi, e non si può che augurarsi che ulteriori osservazioni e ricerche portino maggior luce nello studio di questo argomento.

Volendo ora esprimere in modo schematico i resultati delle presenti ricerche, mi pare che si possano formulare le seguenti:

Conclusioni.

1. Corpi estranei di una certa solidità (spugna, paraffina) introdotti nella cavità peritoneale e nel fegato di animali a sangue caldo (cavie, conigli), provocano la formazione di un tessuto connettivo contenente cellule giganti.

2. Le cellule giganti derivano dalle cellule proprie del connettivo e probabilmente anche dalle cellule dell' endotelio peritoneale attraversando lo stadio di cellule di granulazione (epitelioidi ecc.). Le cellule epatiche non partecipano alla loro formazione.

3. Le cellule giganti si formano per divisione nucleare diretta di una cellula di granulazione ed eventualmente confluiscono fra loro.

4. La posizione dei nuclei della cellula gigante non ha nulla di caratteristico rispetto alla posizione e al volume del corpo estraneo.

5. Le cellule giganti sono probabilmente l' espressione di un fatto progressivo provocato dallo stimolo portato dal corpo estraneo sulle cellule dei tessuti.

6. Le cellule giganti per un tempo abbastanza lungo non subiscono alcuna trasformazione degenerativa, e non danno origine a tessuto connettivo.

Bibliografia.

VIRCHOW, Reizung und Reizbarkeit. (Virch. Arch., 14, 1858).

LANGHANS, Beobacht. u. Resorption d. Extravasates. ecc. (Virch. Arch. 49. 1870). — Ub. Riesenz. mit vandstandigen Kern in Tuber. (Virch. Arch., 42, 1888).

HEIDENHAIN, Verfettung fremdk. in Bauchhöle. (Breslau, 1872).

ZIELONKO, Centralbl. v. Med. Wissenschaft., 56, 1873, e Arch. v. Microsc. Anat., X, 1874.

ULWERSKY, Zur Frage u. traumat. Leberentzünd. (Virch. Arch., 63, 1875).

RUSTIZKY, Knochen Resorpt. u. Riesenz. (Virch. Arch., 59, 1874).

JACOBSON, Vorkomm. v. Riesenz. in granulir. Wunden. (Virch. Arch., 65. 1875).

LANGE, Entstehung d. blutkorperhaltig. zell. in Limphsach d. Frosches, (Virch. Arch., 65).

BRODOWSKY, Ursprung. sog. Riesenz. ecc. (Virch. Arch., 63, 1875).

ZIEGLER, Unters. u. d. Erkunft d. Tuber. (Wurzburg, 1875). — Ueb. path. Bindgewebsneubild. (Wurzburg, 1876).

WEISS, Bildung u. Bedeut. d. Riesenz. u. Fremdk. (Virch. Arch., 68, 1876).

BAUMGARTEN, Organisat. d. Trombus. (Leipzig, 1877). — Histog. d. Tuber. (Virch. Arch., 143).

FLEMMING, Verhalten d. Kern ecc. (Virch. Arch., 77, 1879).

SENFTLEBEN, Verschluss d. Blutgefasse ecc. (Virch. Arch., 77. 1879).

TILLMANS, Experim. Wunden d. Leber ecc. (Virch. Arch., 78, 1879).

E. MARCHAND, Bildungweise d. Riesenz. u. Fremdk. (Virch. Arch., 93, 1883).

NÄGELI, Einfluss d. Pilze a. d. Bildung v. Riesenz. (Arch. v. exper. Path. u. Pharmak., 1885).

F. MARCHAND, Einheilung v. Fremdk. (Ziegl. Beitr., IV, 1888).

YERSIN, Developp. d. Tuberk. Sperim. (Ann. Instit. Pasteur, II, 1888).

SISCHASTNY, Format. d. Cell. géant ecc. (Ann. Instit. Pasteur, III, 1889, e Virch. Arch., 115, 1889).

SUDAKEWITZ, Riesenz. u. elastische Fasern. (Virch. Arch., 115, 1889).

EBSTEIN u. NICOLAIER, Zooparasitarien Tuberc. (Virch. Arch., 118, 1889).

RIBBERT, U. Regenerat. u. Entzund. d. Limphdrüsen. (Ziegl. Beitr., VI, 1889).

PODWYSSOZKY, Necrophagismus u. Biophagismus ecc. (Fortschrift d. Medicin, VII, 1889).

SALZER, U. Einheilung v. Fremdk. (Samml. med. Schrift herausgeg. v. d. Wien. Klin. Wochenschrift, 1890).

GIKIFOROFF, Bau u. Entwickel. d. Granulat. geweb. (Ziegl. Beitr., VIII, 1890).

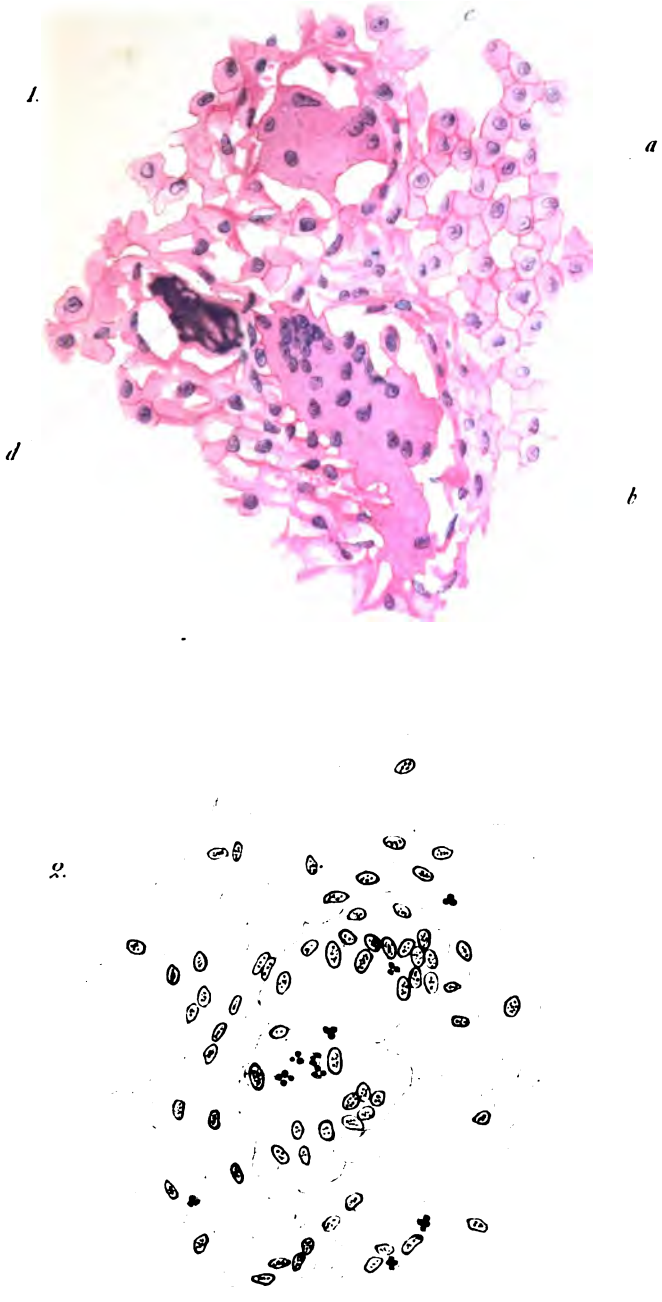
ARDENHEÜER, Histol. vorgang. b. d. Terpentinentzünd. (Ziegl. Beitr., X, 1891).

OCHOTIN, Transplant. todt. Knochentheile. (Virch. Arch., 124, 1891).
CASSAET, Absorbtion d. corps solid. (Arch. d. Méd. Expérim., IV, 1892).
BABES, Ursprung. d. Riesenz. (Centralbl. v. allg. Path. u. path. Anath., XIII, 1902).
KOSTENITSCH et WOLKOW, Develop. d. tuberc. expérim. (Arch. d. Med. expér., IV, 1892).
ARNOLD, Altes u. neues u. Wanderzel. (Virch. Arch., 132, 1893).
MEYER, Fremdk. peritonitis mit Bild. v. Riesenz. (Ziegl. Beit., XIII, 1893).
MANASSE, Granulat. geschwuls. mit Fremdkorp. riesenz. (Virch. Arch., 136, 1894).
KRÜCKMANN, Fremdkorp. tuber. u. Fremdkorp. riesenz. (Virch. Arch., 138 suppl., 1895).
HAMMERL, U. d. d. Kaltbluter in Fremdk. Zellfor. (Ziegl. Beitr., XIX, 1896).
BUNGNER, Einheilung v. Fremdk. (Ziegl. Beitr., XIX, 1896).
FÜERST, U. Veränderung d. Epith. d. Warme u. Kalteeinwirk. ecc. (Ziegl. Beitr., XXIV, 1898).
BORST, Experim. Beitr. z. Fremdk. in Einheil. (Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat., X, 1899).
BECKER, U. Riesenz. in Cancroid. (Virch. Arch., 156, 1899).
CARINI, Istol. d. pseudotub. sperim. (Lo Sperimentale, 1901).
FOÀ, Resoconti del congr. di pat. di Torino. (Gaz. med. ital., 53, 1902).
ZIEGLER, U. Entzünd. Bindgewebsneubil. (Centralb. f. allg. Path. u. path. Anat., XIII, 1902; e Trattato di Anatomia patol., traduzione italiana, Parte prima, § 91, 102, 105).
LUSTIG, Patologia generale (Milano, 1902), Vol. I, Parte III, Cap. VI e IX; Vol. II, Parte VI, Cap. VII; Parte VII, Cap. III (A. III); Parte XVI, Cap. V (B., C., G.), Cap. X (B. II).

Spiegazione delle figure.

FIGURA I. — Preparato di *Coniglio* ucciso *cinque giorni* dopo l'operazione. Introduzione del frammento di *spugna* nel *fegato*. Fissazione in alcool. Colorazione con emallume, eosina. Disegnato con obbiettivo Koristka. Immersione omogenea $^1/_{12}$. Oculare 3. (Ingrandito). — *a*, tessuto epatico; *b* e *c*, due cellule giganti; *d*, sezione di una trabecola di spugna; intorno alle cellule giganti cellule di granulazione che le separano dal tessuto epatico.

FIGURA II. — Preparato di *Cavia* uccisa *sette giorni* dopo l'operazione. Introduzione del frammento di *spugna* nella *cavità peritoneale*. Fissazione in sublimato. Colorazione con emallume, eosina. Disegnato con obbiettivo Koristka. Immersione omogenea $^1/_{12}$. Oculare 3. (Ingrandito). Nel campo microscopico non cade nessuna sezione di trabecola



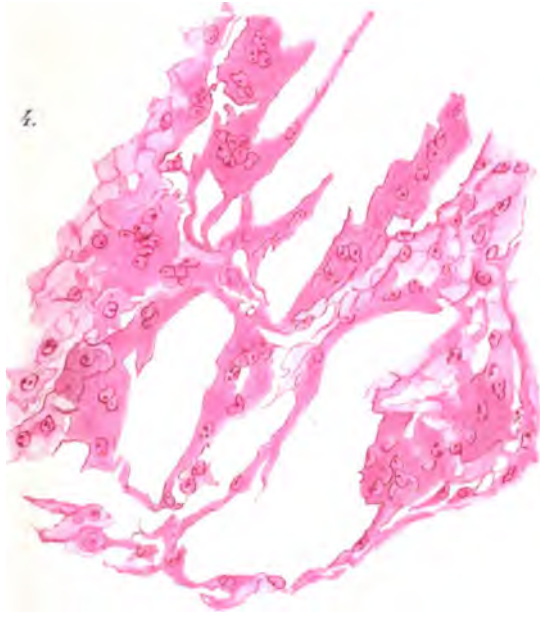
Franchetti.– *Sulle cellule giganti ecc.*

Romanelli dis.

3.

a

4.



Franchetti – *Sulle cellule giganti ecc.*

Romanelli dis.

di spugna, esso è occupato da cellule di granulazione disposte intorno ad una cellula gigante; questa contiene dei leucociti e mostra delle sottili linee che la dividono come in tre parti; deriva quindi probabilmente dalla confluenza di altre tre cellule giganti.

Figura III. — Preparato di *Cavia* uccisa *sette giorni e mezzo* dopo l'operazione. Introduzione del frammento di *spugna* nella *cavità peritoneale*. Fissazione in liquido del Flemming. Colorazione con safranina. Disegnato con obbiettivo Koristka. Immersione omogenea $^1/_{12}$. Oculare 3. (Ingrandito). — *a*, trabecola di spugna, in rapporto con essa una cellula gigante. Ve ne sono altre tre, due delle quali presentano una concavità che doveva essere in rapporto col corpo estraneo. Nel tessuto di granulazione adiacente si vedono tre nuclei in cariocinesi. Notevole la disposizione in ammassi dei nuclei delle cellule giganti.

Figura IV. — Preparato di *Cavia* uccisa *ventun giorni* dopo l'operazione. Introduzione di un frammento di *paraffina* nella *cavità peritoneale*. Fissazione in liquido del Flemming. Colorazione con safranina. Disegnato con obbiettivo Koristka 8. Oculare 3. (Ingrandito). La figura rappresenta un punto della parete di una cavità che era occupata dalla paraffina. Esso contiene a sua volta degli spazi (prima occupati dalle sporgenze anfrattuose del frammento di paraffina) i quali son delimitati e attraversati da cellule giganti di forma svariata, fuse in parte tra loro. All' intorno esiste connettivo giovane.

RENDICONTI

DELLE

ADUNANZE DELL' ACCADEMIA MEDICO-FISICA FIORENTINA

Resoconto sommario delle sedute.

Adunanza pubblica del dì 28 Maggio 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Baduel, Banchi, Banti, Burci, Bessone, Caccia, Capei, Chiarugi, Flora, Levi, Livini, Lustig, Marcacci, Pellizzari, Picchi, Radaeli, Salaghi, Tiberti.

Prof. C. Pellizzari. — *Tricofizia generalizzata con localizzazioni morfologicamente diverse da quelle fin qui descritte.*

L'infermo Trambusti Raffaello di anni 42, coniugato, nativo di Figline ma da molti anni domiciliato in provincia di San Paulo nel Brasile, di professione fabbricante di corde, che io presento all'Accademia, rappresenta per me il caso più strano di tricofizia che io abbia fin qui veduto.

Non solo la malattia si estende dal capo ai piedi di questo soggetto, come da varî giorni abbiamo potuto dimostrare riscontrando la presenza del tricophyton in ogni prodotto secondario delle alterazioni cutanee nel suo corpo, ma offre inoltre le seguenti particolarità cliniche.

In primo luogo una localizzazione della tricofizia nel cuoio capelluto con le alterazioni più tipiche dei capelli, mentre, come è noto, fino a molti anni fa, si negava quasi assolutamente la presenza del tricophyton nel cuoio capelluto dell'adulto.

In secondo luogo la localizzazione della tricofizia nelle unghie delle mani e dei piedi. Ora mentre credo di essere stato uno dei primi a mostrare la relativa frequenza della onicomicosi tricofitica, è quest primo caso nel quale ho potuto trovare tale affezione nelle unghie piedi: altri l'hanno descritta come cosa molto rara.

Ma ciò che colpisce maggiormente nel caso attuale è la morfologia delle localizzazioni del tronco, degli arti, specialmente sulle parti laterali, che per la loro particolare ubicazione, per il colorito bruno delle chiazze che si presentano infiltrate e cosparse di poche e piccole papule pruriginose, rammenta addirittura la forma clinica della prurigine vera, classicamente descritta dall' *Hebra*.

Io non ricordo che alcun Dermatologo abbia dato la descrizione di un quadro simile per la tricofizia delle cosidette parti glabre e perciò mi è parso di sommo interesse presentare all'Accademia questo infermo. Per il fatto della localizzazione del cuoio capelluto, che per me sta a significare che la malattia rimonta alla giovinezza, ed anche per alcuni dati relativi ai parenti del Trambusti, che esso dice pure di professione funai e malati come lui alle unghie, io ritengo cha la tricofizia lo abbia colpito da moltissimi anni e che la lunga durata e la mancanza di cure dia la spiegazione della sua grande diffusione. Quanto alla spiegazione per aver determinato una forma clinica così strana, non saprei dare che questa: l'aver vissuto per molti anni in un clima tropicale e l'avere ecceduto straordinariamente in alcoolici.

Prof. E. Burci. — *Ricerche sperimentali sulle conseguenze patologiche e sulla riparazione delle estese perdite di sostanza del peritoneo parietale.* — (Comunicazione preliminare).

Dirò brevemente lo scopo di queste ricerche sperimentali ed i resultati fin qui ottenuti. Per gli esperimenti ho adoperato i conigli e mi sono comportato nella seguente maniera. Incisa la parete addominale sulla linea mediana per 8-10 centimetri, disposta sugli intestini una compressa di garza caldo-umida sterilizzata colla ebullizione in soluzione fisiologica di cloruro di sodio, facevo sostenere da un assistente con pinzette da presa e spostare in alto (rispetto al piano di operazione) uno dei margini della ferita. Su questo cominciavo col bisturi la dissezione della sierosa, ma a breve distanza dalla linea alba diveniva inutile l'uso del tagliente, divenendo essa facilmente scollabile con uno strumento ottuso. Lateralmente continuavo lo scollamento del peritoneo fin'oltre i vasi epigastrici ed in alto ed in basso, quanto occorreva per delimitare un tratto quadrangolare da resecare, che variava, per estensione, nei diversi animali operati da 12 a 20 cent. quadrati. Terminato lo scollamento praticavo la escissione colle forbici. È da notare che col peritoneo rimanevano spesso sacrificate alcune fibre degli strati muscolari profondi.

Soltanto nel primo esperimento, forse perchè furono meno efficaci precauzioni prese ed anche per la speciale irrequietezza dell'animale, venne più volte la espulsione di anse intestinali, che richiese ripete manovre di riduzione.

La ferita della parete addominale cicatrizzò perfettamente in tutti

gli animali per prima intenzione. Uccisi un coniglio dopo un mese, un altro dopo 45 giorni, un terzo dopo due mesi, ed altri due dopo 75 giorni.

Trovai nel primo coniglio adesione di un'ansa del tenue con un certo tratto della superficie, che era stata privata della sierosa; negli altri non trovai alcuna aderenza. Dai pezzi che presento resulta evidente questo fatto ed anche l'altro che la continuità della sierosa si è completamente ristabilita. Ampia conferma di ciò si ha per mezzo dell'esame microscopico.

Continuo questi esperimenti dando ad essi diversa minore durata per potere riconoscere con precisione il modo come si svolge nei suoi particolari il processo di riparazione di questa perdita di sostanza, studio che offre un duplice interesse, perchè è supponibile che la recognizione del meccanismo istogenetico dei tessuti che riparano la ferita estesa del peritoneo possa indirettamente servire a riconoscere la giustezza, o no, della interpetrazione che si dà al rivestimento cellulare della sierosa in base a criteri embriogenetici.

Dall'esame dei pezzi ricavati dai miei esperimenti risulta intanto che: 1° dopo la escissione di lembi estesi di peritoneo parietale la sierosa si rigenera integralmente in un tempo assai breve.

2° per la mancanza della sierosa in uno dei margini di una ferita addominale non viene compromesso in alcun modo il processo di cicatrizzazione nè la solidità e la resistenza ulteriore della cicatrice.

3° per il processo di flogosi neoformativa, che presiede alla riparazione della perdita di sostanza del peritoneo, non si producono aderenze se non eccezionalmente, oppure, qualora se ne producano, spariscono in un tempo relativamente breve.

Intanto anche questi primi resultati hanno importanza.

Può avvenire, ed è avvenuto anche a me, per l'asportazione di tumori voluminosi della parete addominale aderenti od interessanti la sierosa, di doverne sacrificare tratti estesi. È utile a sapersi che la riprova sperimentale dimostra come non rimanga alterato per questo il processo di guarigione e che la lenta riparazione (non molto lenta) della perdita di sostanza del peritoneo non porta, se non come conseguenza eccezionale, la formazione di aderenze. Le aderenze riscontrate nel primo coniglio possono riferirsi ai maltrattamenti relativi risentiti dall'intestino più volte espulso e più volte ridotto durante l'esperimento.

Non può escludersi in modo assoluto che qualche aderenza si sia prodotta anche negli altri casi. Potrebbero considerarsi come residuo di esse certe diseguaglianze, certi ispessimenti e rilievi, che si osservano in alcuna delle cicatrici da me ottenute. È certo però che dopo un mese e mezzo vere aderenze non ne ho più trovate.

Del resto la pratica chirurgica prova già ampiamente come si formino o per lo meno rimangano meno aderenze di quello che si cred dopo traumatismi operatori anche gravi intraddominali.

Io ne ho avuto la riprova essendo dovuto intervenire ripetutamente colla laparotomia in qualche caso di peritonite tubercolare ed anche operando soggetti con eventrazioni postlaparotomiche. Ebbi poi di ciò ampia conferma esaminando i resultati di numerose ricerche sperimentali, che feci fare al dott. Taddei, già mio aiuto di patologia chirurgica, sulla emostasia nelle resezioni del fegato. Era importante vedere come assai rapidamente si riducessero di estensione e si rilasciassero, fino a distaccarsi, le aderenze che in questi esperimenti si formavano di necessità per tratti estesi.

Posso dunque concludere e per argomenti diretti e per analogia, che dopo la escissione di tratti estesi di sierosa peritoneale non si hanno aderenze numerose nè persistenti. E si comprende ciò conoscendo il meccanismo di produzione delle aderenze peritoneali, per quanto siano poco concordi coloro che si sono occupati di studiarlo. Certamente due condizioni principali presiedono alla formazione di queste aderenze: flogosi discretamente intensa di tratti contrapposti di sierosa, prolungato rapporto di essi per scarsa mobilità delle parti da essa rivestite.

Si comprende come il chirurgo sia sufficientemente garantito contro aderenze viscerali col peritoneo parietale, quando abbia avuto riguardo di evitare di portare sulla sierosa stimoli settici e stimoli chimici (antisettici) e di traumatizzarle il meno possibile. La mobilità del contenuto addominale, in parte intrinseca, dipendente poi dagli spostamenti che, sotto la influenza della respirazione, conferisce ad esso il diaframma è condizione sfavorevole perchè esse si producano, tanto più che diversa è la direzione secondo la quale, sotto la stessa influenza, si compiono gli spostamenti del contenuto e quelli della parete addominale.

Del resto le esperienze di minore durata, ch'io faccio per proseguire queste ricerche, mi daranno certamente il modo di portare qualche ulteriore contributo anche all'argomento assai interessante, e non del tutto dilucidato, delle condizioni che favoriscono e di quelle che si oppongono alla produzione delle aderenze peritoneali.

Prof. E. Burci. — *Contributo di casistica clinica.*

1°. *Tre resezioni di grandi articolazioni degli arti inferiori nello stesso soggetto, per tubercolosi articolare, seguite da buon resultato definitivo.*

Con diverso indirizzo hanno proceduto in passato e tutt'oggi procedono i chirurghi nella cura delle lesioni artritiche di natura tubercolare.

Nel periodo preantisettico della chirurgia, per le inesatte cognizioni sulla patologia di queste affezioni articolari ed anche pei pericoli ai quali avrebbero esposto i malati le resezioni articolari, qualora si fossero volute tentare, i chirurghi si trovarono divisi in due campi. Da un lato gli astensionisti, per paura, da un intervento operatorio conservativo efficace, dall'altro i demolitori per necessità, giacchè nel maggior

numero dei casi a poco per volta, con cure che riescivano efficaci, si arrivava al momento nel quale si imponeva il sacrifizio dell'arto malato. Introdottasi l'antisepsi nella pratica chirurgica, pei successi ottenuti colle resezioni nei gravi traumatismi articolari, un cospicuo numero di chirurghi si sentì incoraggiato ad eseguirle nelle artriti tubercolari. E così dopo che furono tentate con poco vantaggio altre cure operatorie più economiche, ricorsero ad esse specialmente i chirurghi tedeschi e diversi anche fra noi.

Non pochi però attaccarono violentemente e senza tregua questo sistema di terapia, non cercando di migliorarlo o di precisarne meglio le indicazioni riconoscendone l'applicabilità almeno in qualche caso, ma rigettandolo assolutamente per opposizione ai principî sui quali si fonda e sostenendo che quelle gravi operazioni, che attaccano l'articolazione ammalata, provocano con facilità la generalizzazione del processo tubercolare o, per lo meno, lo sviluppo di altre localizzazioni metastatiche ed aggravano le sorti di focolai viscerali preesistenti, accelerandone l'andamento.

Ebbi già ad accennare in resoconti clinici come dalle mie osservazioni risultasse che le resezioni articolari, convenientemente praticate, non esponevano a queste gravi conseguenze assai più delle amputazioni. L'esperienza clinica avevami dimostrato e mi ha confermato successivamente, che talora, dopo una di queste operazioni radicali, si vede esplodere una tubercolosi acuta generalizzata.

Anche oggi in molti chirurghi è spiccata la tendenza ad astenersi dallo intervenire con operazioni locali. A tanto è arrivata in alcuno la tendenza astensionista, che tre anni or sono il Calot scriveva: « le tu-
« bercolosi suppurate prima non guarivano mai, oggi guariscono tutte.
« Forse ciò succede perchè noi le operiamo meglio, più presto, più an-
« tisetticamente? *non, c'est tout simplement parceque nous ne les operons*
« *jamais* ».

Calot è stato certamente uno dei più esagerati oppositori dell'intervento operatorio nelle localizzazioni tubercolari, ma molti altri si sono accostati al suo modo di vedere. Ritengo pericolose tali esagerazioni, perchè da un lato allontanano i malati da compensi terapeutici, che (dicasi quello che si vuole) i fatti dimostrano essere in grado di rendere segnalati servigi, e d'altra parte non essendo possibile che i compensi incruenti, preconizzati come infallibili o quasi, rispondano nella maggioranza dei casi, infondono la sfiducia in molti che li adoperarono con entusiasmo, ma inutilmente e che li abbandonano del tutto con altrettanta facilità dopo i primi insuccessi. Sono i soliti danni che accompagnano le proposte d'indole pratica che non siano basate sopra criteri razi mente ecclettici.

È noto come l'organismo umano e specialmente certi organi (le rose per esempio) abbiano sortito da natura speciali risorse contro il

cesso tubercolare. È logico che il chirurgo cerchi di ottenere la guarigione delle localizzazioni recenti e circoscritte, migliorando le condizioni di resistenza generale e locale e favorendo o producendo ad arte uno stato di cose analogo o molto simile a quello, per il quale avviene la spontanea regressione del processo morboso. Ma come vi sono tubercolosi articolari che guariscono trattate in tale guisa, altre ve ne sono che, non soltanto non risentono benefizio, ma continuano progressivamente a peggiorare. Laddove questi tentativi di cura riescano inutili od appariscano fino da principio tali a chi giudica senza preconcetti, quando la resezione non debba essere eccessivamente estesa per essere completa e quando non esistano troppo gravi lesioni delle parti molli o condizioni di età o stato generale così tristi da non poter fare le spese della riparazione, quando non esistano dunque queste condizioni che consigliano la demolizione dell'arto, ritengo che convenga intervenire con una operazione chirurgica, che valga a remuovere le parti malate, conservando l'arto ad una funzione sufficiente per quanto più o meno imperfetta. Questa convenienza resulta tanto maggiore quando è possibile, senza aprire l'articolazione tubercolosa, di praticarne l'asportazione *in toto*.

La dilazionata remozione del focolaio tubercolare è spesso la ragione della comparsa di altre localizzazioni, che possono avere talora maggiore importanza di quella primitiva.

Un caso, del quale ora do cenno, serve bene a dimostrare non soltanto i vantaggi che possono trarsi dalle resezioni articolari nella tubercolosi delle grandi articolazioni, ma si adatta a provare la convenienza che può esserci nel non lasciare tregua al processo morboso, combattendolo energicamente di nuovo quando ad una prima succedano altre gravi localizzazioni articolari nella stessa sede ed altrove.

F. L. di Pisa di anni 5, veniva accolto in una camera a pagamento dello Spedale pisano nel 1896 per una coxite tubercolare a sinistra al 2° stadio. Erano state inutilmente tentate le solite cure generali e quelle locali incruente, che anzi erasi formato in questo tempo un ascesso tubercolare assai voluminoso periarticolare.

Trattai l'ascesso asportandone la parete e cauterizzando la superficie cruenta, e praticai la resezione dell'anca. La guarigione si verificò assai rapidamente.

Dopo due anni da questa operazione cominciò a tumefarsi il ginocchio destro ed in breve assunse tutti i caratteri clinici propri della tubercolosi di questa articolazione. Riusciti inutili anche questa volta i tentativi di cura incruenta, le iniezioni iodoformizzate entro l'articolazione e quelle sclerogene periarticolari, dovei decidermi a resecare il ginocchio. La guarigione avvenne sotto un solo apparecchio.

Era decorso poco più di un anno da questa seconda operazione, quando, dopo un morbillo, tornò ad ammalarsi l'anca sinistra. Non credo che si vorranno mettere a debito delle precedenti operazioni queste

nuove localizzazioni, che sarebbero metastasi veramente oltremodo tardive. Rimasi però impressionato di questo insistente ripetersi di gravi localizzazioni tubercolari e, siccome il ragazzo appariva assai malandato, pensai se fosse conveniente un terzo intervento, al quale mi decisi (pregato dai parenti) dopo avere escluso, con un esame generale accurato, la esistenza di altri focolai tubercolari apprezzabili. Resecai la neoartrosi dell'anca ed il malato guarì e rifiorì rapidamente il suo stato generale.

Sono quattro anni che la guarigione si conserva completa. Anche dal punto di vista del resultato funzionale potei essere contento dell'opera mia, poichè gli arti avevano acquistato una lunghezza presso che eguale (come si vede dalle fotografie che presento) ed oggi la deambulazione si compie abbastanza bene, potendo il malato camminare col sostegno di un solo bastone.

Ecco un caso nel quale la salute fu guadagnata certamente per avere ricorso con insistenza alla resezione delle articolazioni malate. Tanto più perchè esso presentavasi come uno dei meno favorevoli per decidersi alla 2ª ed alla 3ª operazione, ho creduto opportuno di presentarlo come documento importante in favore alla tesi dell'intervento chirurgico locale, quando l'affezione tubercolare dell'articolazione non abbia oltrepassato certi limiti e quando non vi siano altre localizzazioni gravi e specialmente viscerali.

2°. *Di un voluminoso fibroma mollusco della regione occipitale.*

Nell'ottobre del 1899 veniva accolta nella sezione chirurgica, che io dirigeva allora nello Spedale di Pisa, certa P. M. di anni 22 di Pisa. Essa presentava nella regione occipitale un grosso tumore globoso alquanto schiacciato dall'indietro in avanti, di un volume approssimativamente comparabile a quello di una testa di bambino di qualche mese di età, molle, irreducibile con superficie alquanto ineguale per rilievi ed insolcature non molto accentuate, che faceva corpo col capillizio, mentre era mobile sui tessuti profondi. Il tumore ricadeva alquanto sulla nuca per effetto del peso. Sulla superficie del capillizio corrispondente ad esso, radi erano i capelli; piuttosto voluminosi si presentavano i vasi sanguigni visibili alla periferia del tumore.

Dieci anni prima la malata aveva avvertito nello spessore del cuoio capelluto, nella parte centrale della regione occipitale, una intumescenza della grossezza di un chicco di granturco. Questa era lentamente cresciuta senza essere mai causa di dolori, fino ad assumere il volume più sopra accennato. Feci diagnosi di voluminoso fibroma mollusco della cute della regione occipitale e lo estirpai eseguendo un processo operatorio, del quale darò fra breve alcuni particolari che mi sembreranno di maggiore interesse.

Per quanto siano abbastanza rari, pure sono stati osservati alcuni altri tumori simili a questo mio per natura, per volume ed anche per sede. Sembrerebbe anzi che questi tumori avessero una certa predile

zione per la regione occipitale. Coloro che li hanno osservati non sono concordi nel precisare la loro essenza anatomo-patologica e nel determinare il punto di origine della neoformazione. Forse in realtà, per quanto clinicamente simili, queste neoformazioni patologiche possono essere diverse per origine e per struttura.

E così può spiegarsi come alcuni li abbiano descritti come semplici fibromi; altri, come il Baeckel, li abbia considerati come il prodotto di una ipertrofia elefantiasiforme della cute e del connettivo sottocutaneo; e Chipault abbia osservato in questa stessa regione un certo numero di nevromi plessiformi.

Posso dire senz'altro che nel mio caso non trattavasi certamente di questa ultima forma morbosa, perchè sebbene l'aspetto esteriore possa alcuna volta ingannare con una certa facilità e lasciare dubbioso il diagnostico fra il fibroma molle che riconoscesi comunemente col nome di fibroma mollusco ed il nevroma o fibronevroma plessiforme, mancavano nel caso mio importanti caratteri. È noto come i nevromi plessiformi ordinariamente siano congeniti e siano accompagnati da altri tumori simili, di diverso volume, in altre parti del corpo; come abbiano sede nel connettivo sottocutaneo e, quando occupano la regione occipitale, si trovino a preferenza nelle parti laterali che non in quella mediana; infine come essi presentino alla periferia un intreccio assai caratteristico di cordoni di una certa consistenza.

Nel mio caso mancavano questi caratteri clinici e nel tumore che estirpai non esistevano affatto quelle note speciali alterazioni dei nervi, che vengono riconosciute come proprie del fibroma plessiforme.

Dall'esame istologico risultò trattarsi di un fibroma molle non incassulato, formatosi negli strati profondi del derma cutaneo.

Presenterebbero un certo interesse alcune particolarità istologiche di questo mio caso, ma non mi ci trattengo avendo affidato lo studio microscopico di questo e di altri tumori simili da me raccolti al dottor Taddei. Voglio solamente accennare ad una disposizione anatomica facilmente apprezzabile anche con un esame istologico superficiale, giacchè ad essa è verosimilmente riferibile in massima parte la caratteristica mollezza di questo e di simili tumori.

In mezzo al tessuto fibroso assai ricco di elementi cellulari si trovano assai numerose cavità di diversa ampiezza, che, pei rapporti e per il rivestimento endoteliale evidente in alcune di esse, si riconoscono per cavità linfatiche. Queste cavità si rinvengono talora in fibromi di altre regioni e di altri organi e possono anche raggiungere dimensioni assai cospicue.

Nel caso nostro alcuno le ha volute considerare come il prodotto di una neoplasia fibro-linfangiomatosa. Io non voglio entrare in discussioni che mi porterebbero ad addentrarmi nella questione della patogenesi delle neoformazioni comunemente comprese nel gruppo dei fibromi,

e dei così detti tumori vascolari, dei quali ultimi da diversi patologi viene contestata la natura neoplastica, per considerarli come semplici angectasie dipendenti spesso da speciali condizioni congenite favorite da stimoli di natura meccanica.

Per la mancanza di una speciale struttura della parete, per il modo come queste cavità si trovano irregolarmente sparse nel tessuto fibromatoso e per la sede loro nelle parti meno periferiche del tumore sono indotto a considerarle come dilatazioni di vasi e di spazi linfatici, prodottesi per le modificazioni indotte nella cute e nelle vie linfatiche di questa dalla formazione neoplastica, insomma il prodotto di un edema linfatico cronico.

Un certo interesse presenta la tecnica operatoria da seguirsi per praticare nelle migliori condizioni la ablazione di tumori di questa sede voluminosi, come quello da me osservato, e che sono sempre assai vascolarizzati.

Sono da abbandonarsi senz'altro le operazioni incomplete eseguite da alcuni in passato, tanto più perchè la esperienza ha dimostrato che (per quanto si tratti di tumori nei quali manca ogni carattere di malignità) la neoformazione torna a pullulare se insufficientemente asportata. Per quanto mi fosse sembrato di essere completo nella operazione, avvenne anche a me di vedere riprodursi in un punto del tessuto morboso, che dovei asportare in secondo tempo.

Dovendo eseguire l'ablazione generosa di tumori così voluminosi, si comprende come rimanga una larga perdita di sostanza, alla quale sussegue una estesa cicatrice priva di capelli. Per la vascolarizzazione di questi tumori l'asportazione loro espone ad emorragie abbondanti, rese anche più gravi per la speciale disposizione dello strato sottocutaneo e per l'aderenza dei rami arteriosi ai sepimenti fibrosi di questo strato, che difficulta la retrazione e quindi la emostasia spontanea e non agevola neppure la forcipressura.

Da questo stato di cose emergono nel caso speciale due precetti fondamentali, ai quali deve rispondere la tecnica operatoria: ridurre al minimo la emorragia e la perdita di sostanza per la esportazione completa del tumore.

Raggiunsi agevolmente lo scopo nel modo seguente. Praticai circondando il capo con un laccio elastico la ischemia preventiva. Tengo il sistema di assicurarmi dal risalire di esso nella regione posteriore, trafiggendo in senso trasversale la pelle della regione sottoccipitale con un lungo ago retto e resistente ed assicurando le volute del laccio elastico sotto le due estremità di questo. Messomi al sicuro da una abbondante emorragia immediata, asportai rapidamente il tumore col cuoio capelluto, stando ad una certa distanza dal suo punto d'impianto. Forcipressi e legai i vasi visibili e quindi in uno stesso tempo provvidi a completare la emostasia ed a ridurre al minimo la perdita di sostanza.

Per far ciò in corrispondenza dei 4 punti cardinali della exeresi rotondeggiante, passai attraverso al margine un ago montato con un robusto filo di seta, col quale penetrai poi nell'aponevrosi epicranica verso la parte centrale della perdita di sostanza. Annodai le quattro anse di filo, stirando quanto era possibile, per fissare il margine della ferita cutanea nelle condizioni più favorevoli per la maggiore riduzione della perdita di sostanza. Ciò fatto con una sutura continua fissai circolarmente il margine stesso alla aponevrosi epicranica sottostante. Questa sutura continua mi servì, oltre che a mantenere vicini, il più possibile, i margini della perdita di sostanza, ad assicurare la compressione dei vasi recisi e quindi la emostasia definitiva. Dopo di ciò tolsi le quattro anse di fissazione.

Il risultato fu ottimo e, salvo il piccolo secondo intervento sopra accennato, niente avvenne che turbasse il regolare andamento postoperatorio, ed il risultato fu veramente soddisfacente e tale si mantiene ormai da circa quattro anni.

Il **prof. Lustig** a nome del **dott. Aldo Castellani**. — *Sulla eziologia della malattia del sonno.*

Il dott. Aldo Castellani ha intrapreso per incarico della *Royal Medical Society* nell'Africa centrale, e precisamente nell'Uganda, alcune ricerche sulla causa della malattia del sonno. Pregato da lui io vi riassumo brevemente e fedelmente i risultati dei suoi studi, come mi risultano da un manoscritto ch'egli mi volle inviare e ch'io ho trasmesso al dott. Nesti redattore capo della *Critica Medica.*

È noto che la malattia si osserva soltanto nella razza negra, ed ha un decorso cronico, e la morte che è inevitabile si presenta dopo alcuni mesi dall'apparire dei primi sintomi. Al tavolo anatomico non si riscontrano alterazioni notevoli degli organi, salvo una iperemia dei vasi cerebrali.

Il dott. Castellani ha trovato nel liquore cerebro-spinale dei malati da lui esaminati una forma di protozoo che appartiene ai flagellati. Questo parassita sembra il *Trypanosoma* ed è sovente ospite del sangue di molti animali, mentre nei negri colpiti dalla malattia del sonno esso si trova rarissime volte nel sangue. I parassiti tipici trovati dal Castellani sono numerosi. Nel liquido cerebro-spinale, e accanto a questi, Egli ha scoperto altre forme *plasmatiche*, che il nostro osservatore mette in rapporto con ciclo evolutivo del microorganismo, nei primi stati della malattia il Castellani non ha scoperto sul corpo dei malati nessun altro microorganismo, negli ultimi invece si trovano accanto il Trypanosoma sia nel sangue che nel liquido cerebro-spinale degli streptococchi che secondo il nostro osservatore dovrebbero avere un riflesso sul decorso della malattia del sonno.

Levi dott. Giuseppe. — *Ricerche morfologiche sulla formazione ammonica.* (Non consegnato il manoscritto).

Il *Segretario* legge una nota del socio corrispondente **Prof. G. Ceresoli** intorno alla « *ablazione completa dell'apparecchio tiro-paratiroideo nei conigli nutriti con grassi alogenati* ».

L'A. ha potuto ottenere anche nel coniglio un'immunità relativa di fronte agli effetti della tiro-paratiroidectomia mediante l'introduzione di grassi alogenati (acido di bromo e cloro-jodostearico).

Nell'apparecchio glandolare sopra ricordato si riscontrano modificazioni strutturali che ricordano quelle descritte nel *tiroidismo* e *nel morbo di Basedow*.

Nella memoria originale si trovano i dettagli dell'esperimento.

L'A. dichiara di proseguire questi studî.

Il Segretario
RADAELLI.

DOMENICO CESARE BARTOLINI, *Responsabile.*

(Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. A. Monti).

ADENOMA CONGENITO OMBELICALE A TIPO GASTRICO.

(CONTRIBUTO ALLO STUDIO DEI TUMORI CONGENITI DELL'OMBELICO).

DOTT. FERDINANDO STRADA

Assistente.

Fra i tumori congeniti dell'ombelico, gli adenomi sono certamente molto interessanti sia per la loro struttura, sia per le questioni che ancora si agitano intorno alla loro origine e al loro modo di formazione. Questi tumori, per quanto siano prevalentemente costituiti da tessuto ghiandolare, non corrispondono forse esattamente alla definizione di adenoma; pure tuttavia la maggior parte degli autori ha accettato ormai questa denominazione come la più adatta ad indicare la loro particolare struttura, e a separarli nettamente da un altro gruppo di tumori coi quali si potrebbero confondere, almeno macroscopicamente, ma di struttura affatto diversa, i granulomi. La priorità nello studio di questi tumori, attribuita comunemente a *Küstner* (1) (il quale nel 1877, in un lavoro intitolato « Dell'adenoma e del granuloma ombelicale nel bambino » ne descrisse due casi) fu rivendicata poi al *Kolaczek*, (2) il quale già nel 1875 aveva descritto un caso suo, e ne aveva riportato un altro occorso a *Fischer* (3) nel 1874. *Kolaczek* aveva dato a questi tumori il nome di entero-teratomi. In seguito furono descritti altri casi. Nel 1881 *Chandelux* (4) riferì di un caso molto interessante, cui diede la denominazione di « Esonfalo funiforme diverticolare inverso ».

Nel 1884 *Lannelongue* e *Frémont* (5) ne descrissero 3 casi, col nome di « Tumori adenoidi diverticolari ». *Villar* (6), il quale nella sua tesi del 1886 riunisce tutti i casi noti fino allora, annovera 11 casi di adenoma intestinale (e cioè 2 di *Küstner* (1), 3 di *Lannelongue* e *Frémont* (5), 2 di *Fischer* (3), 2 di *Kolaczek* (2), 1 di *Chandelux* (4), 1 di *Leroy* (7), e 1 solo caso di adenoma gastrico, quello di *Tillmann* (8)). Un altro caso di adenoma intestinale fu descritto nel 1882 dal dott. *Ferrari* (9), e esportato dal dott. *Bourgeois* di Berna. Citiamo infine i casi di *Ajello* (10 [1]), di *Tillaux* (11), di *Hüttenbrenner* (12), di *Sadler* (13), di *Emmet-Hott* (14), di *Stori* (15), e forse qualche altro che può esserci sfuggito.

Casi analoghi a quello di *Tillmann* non ne abbiamo che 2, e cioè quello di *Roser* (16) e quello di *Siegenbeck van Heukelom* (17).

Io devo alla gentilezza del chiarissimo dott. *Cattaneo*, chirurgo primario nell' Ospedale di S. Matteo in Pavia, il caso che espongo, e del quale egli mi fornì anche le notizie cliniche, da me completate poi in una visita fatta all' ammalato, dopo l' esportazione del tumore.

Storia clinica. — Il tumore fu asportato nel giugno dello scorso anno a tal Luigi C. d'anni 20, calzolaio, da Torre Mangano.

Egli non ebbe mai alcuna malattia.

Ha parecchi fratelli e sorelle, tutti sani. Padre e madre viventi e sani. A quanto racconta la madre, la gravidanza e il parto decorsero perfettamente normali. Il bambino nacque a termine, perfettamente costituito.

La levatrice notò soltanto una grossezza del cordone ombelicale un po' superiore alla norma; essa praticò la legatura regolarmente, e la caduta del resto del cordone avvenne all'8°-9° giorno.

A detta della madre (per quanto essa non possa escludere che esistesse anche prima) solo circa un mese dopo la nascita, essa si sarebbe accorta della presenza di un piccolo tumoretto, di colore rossiccio, di aspetto carnoso, in forma come di fungo, in corrispondenza dell'ombelico.

La superficie del tumore era sempre umettata, come cosparsa di una secrezione vischiosa, filante, limpida, che non era pus e che non macchiava la biancheria in giallo. La grossezza del tumore era allora pressa

(1) I casi di *Ajello* e di *Tillaux* sarebbero veri adenomi.

poco quella di una nocciola. Pare che la levatrice, allo scopo di distruggerlo, abbia applicato delle pennellature con nitrato di argento, ma senza risultato.

Quando il bambino fu all'età di circa 2 anni, fu condotto alla Clinica Operativa dove però si rifiutarono di operarlo, dichiarando, a quanto afferma la madre, che l'operazione sarebbe stata, con molta probabilità, fatale pel bambino.

Il tumore che andò lentamente aumentando di volume, era indolente anche alla palpazione: solo arrecava qualche molestia al paziente quando, in causa di ripetuti movimenti, veniva esposto a prolungata irritazione.

Allora si notava in alcuni punti della superficie, un leggero gemizio di sangue. Non si ebbe mai nessun disturbo dal lato del tubo digerente. La madre tentò più di una volta di far cadere il tumore, legandone strettamente il peduncolo, ma non vi riuscì. A detta della madre, il tumore presentava nei primi anni una piccola depressione, pressochè centrale, alla sua estremità; dalla quale usciva del liquido filante, mucoso, sempre però in scarsa quantità. Non avvertì mai fuoriuscita di materie fecali.

Il tumore, negli anni successivi, andò ingrossando a poco a poco. L'ammalato non ebbe mai disturbi notevoli. Doveva naturalmente evitare i bruschi movimenti, gli sfregamenti prolungati sul tumore. Egli lo teneva abitualmente ricoperto con una pezzuola di tela per assorbirne la secrezione continua. Solo nel giugno dell'anno scorso, dovendo presentarsi alla leva militare, il paziente si presentò all'Ambulatorio Chirurgico dell'Ospedale S. Matteo domandando di essere liberato possibilmente dal suo piccolo disturbo.

Il tumore si presentava allora della grossezza di una grossa noce (lungo circa 8 cm., largo 2-2 $^1/_2$ cm.) in forma come di fungo, con un peduncolo corto, e sottile (4-5 mm.) che si impiantava in corrispondenza dell'ombelico.

La superficie era lucida, leggermente granulosa, come vellutata, paragonabile nell'aspetto alla mucosa intestinale nei prolassi del retto; umettata da un liquido filante, mucoso, che in alcuni punti era diseccato in forma di piccoli grumi biancastri. Il tumore aveva una consistenza solida, uniforme; non aveva la mollezza delle granulazioni carnee.

Era assolutamente irriducibile; indoloro alla palpazione moderata; solo leggermente dolente quando si facevano degli stiramenti un po' forti sul peduncolo. Alla compressione il volume del tumore non cambiava sensibilmente. Non si percepiva nè crepitio, nè gorgoglio; per cui bisognava pensare che il tumore fosse solido, e non comunicante coll'intestino.

Ad un lato del tumore si osservava come una piccola docciatura, quasi parallela al suo diametro maggiore, e estesa per quasi tutta la sua lunghezza.

Esplorato con uno stiletto si vide che si trattava di una ripiegatura affatto superficiale.

Anche all'estremità anteriore, alquanto da un lato, dove esisteva una leggera depressione che sembrava l'estremità del solco notato sulla faccia laterale, lo stiletto non penetrava assolutamente.

L'esportazione del tumore riuscì semplicissima. Si legò solidamente il peduncolo, stirandolo alquanto, con 2 lacci di seta, e lo si recise fra i due lacci, con un colpo di forbici. Non si ebbe che qualche goccia di sangue. Si praticò una medicazione opportuna, e l'ammalato fu senz'altro rimandato.

Il paziente non ritornò più all'ambulatorio. Io lo rividi a casa sua circa 3 mesi dopo, perfettamente guarito: egli non ebbe mai disturbi di sorta.

In corrispondenza dell'ombelico si notava allora una piccola cicatrice stellata, leggermente depressa. Attorno ad essa, sul raggio di 1 cm.-1 cm. e mezzo, si notava un certo intasamento, un indurimento della parete addominale, in forma come di piastra. Anche alla palpazione esercitata con una certa forza, l'individuo non accusava nessun dolore.

Descrizione istopatologica. — Il tumore esportato fu conservato in alcool, e qualche giorno dopo fu mandato all'Istituto di Anatomia Patologica per l'esame microscopico. Pur troppo però, forse per facilitarne la fissazione, era stato irregolarmente diviso in parecchi pezzi; il che, se non impedì l'esame della struttura del tumore, sia nel suo insieme come nei particolari, rese però difficile un opportuno orientamento del pezzo.

Approfittando di una fetta del tumore comprendente una sezione completa di esso in direzione quasi parallela al suo diametro maggiore (però alquanto obliqua) si potè studiare il tumore nel suo insieme. Su pezzi più piccoli si studiarono poi i particolari di struttura.

Il pezzo più grosso fu incluso in celloidina; gli altri parte in celloidina, parte in paraffina. Le sezioni attaccate al vetrino, furono colorate coi soliti mezzi.

Già ad un esame a piccolo ingrandimento (oculare 2 Koristka obbiettivo 1) si distinguono facilmente nel tumore tre zone, una periferica, una mediana, e una centrale.

Colpisce subito una grande analogia di struttura colla parete del tubo gastro-enterico. Si direbbe di avere dinnanzi una sezione di questa parete, notevolmente ispessita in tutti i suoi strati, e più specialmente nello strato ghiandolare.

Lascio da parte uno strato più esterno che non fa parte integrante del tumore, più o meno spesso a seconda dei punti, per quanto pressc continuo su tutta la superficie di esso. È formato da una sostanza or genea, nella quale sono impigliate numerose cellule rotonde; qua e si notano anche piccoli accumuli di globuli rossi, in corrispondenza punti nei quali sono avvenute delle piccole emorragie superficiali.

Si tratta evidentemente della secrezione del tumore, addensatasi alla superficie di esso.

La *zona corticale* che ha uno spessore pressochè uniforme su tutto il tumore, di circa 3 mm. presenta una struttura molto complessa. Essa è ricoperta alla superficie da un epitelio cilindrico ad un solo strato, ed è caratterizzata dalla presenza di numerosissime strie raggiate che penetrano a profondità diversa verso il centro del tumore, e corrispondono ad altrettante ghiandole tubolari. La superficie del tumore non è liscia, ma sparsa di piccole sporgenze quasi in forma di papille, alternate con depressioni di varia ampiezza e profondità. L'epitelio di rivestimento è continuo tanto sulle sporgenze come sulle depressioni.

Negli strati più profondi, i tubi ghiandolari sono sezionati più o meno obliquamente o perpendicolarmente, e si presentano in forma di cavità rotondeggianti o ovali, tappezzate da un solo strato di epitelio cilindrico. Queste cavità sono numerosissime, fittamente addossate l'una all'altra; formano in alcuni punti del tumore una serie di 5 o 6 strati sovrapposti l'uno all'altro, come si vede nella figura. Alcune di queste cavità si presentano più o meno dilatate, in forma di piccole cisti. Le ghiandole sono di due tipi diversi.

Le ghiandole del *primo tipo*, che formano la grande maggioranza, sono ghiandole che ricordano perfettamente la struttura delle tipiche ghiandole piloriche dello stomaco. Sono cioè ghiandole tubolari semplici o composte, caratterizzate dai numerosi avvolgimenti a spirale e dalle numerose suddivisioni e ramificazioni dei tubi ghiandolari, sicchè in alcuni punti fanno quasi l'impressione di ghiandole a grappolo, e come tali furono considerate da diversi autori (*Bruch, Donders, Frey, Krause*, ecc.).

L'epitelio di rivestimento di queste ghiandole, consta di un solo strato di cellule di un unico tipo: cellule cilindriche, finamente granulose, poco intensamente colorabili, a nucleo rotondo, che occupa la parte basale della cellula.

Le ghiandole del *secondo tipo*, corrispondono perfettamente alle ghiandole di *Lieberkühn* dell'intestino. Sono ghiandole tubolari semplici; più di frequente di quanto si verifica nell'intestino, si vedono qua e là le ghiandole spesso suddividersi nella loro estremità inferiore.

L'epitelio di rivestimento di queste ghiandole, consta di due tipi di cellule: cellule cilindriche a nucleo generalmente di forma ellittica, unico, posto nella metà inferiore della cellula, e cellule caliciformi.

Colle colorazioni specifiche del muco, (tionina, mucicarmino, muciemateina, ecc.), le cellule caliciformi si colorano intensamente, e si colora pure il secreto contenuto nel lume ghiandolare di queste ghiandole, ciò che non succede mai per gli elementi del primo tipo di ghiandole descritto (ghiandole piloriche).

Queste ghiandole a tipo di ghiandole di *Lieberkühn*, sono limitate ad un solo tratto della superficie del tumore, non molto esteso, e anche

là si trovano frammiste, specialmente nella zona di passaggio, a ghiandole del primo tipo.

In questo tratto anche nell'epitelio di rivestimento delle papille, si trovano cellule caliciformi, che non si trovano in tutto il resto del tumore.

In mezzo a tutti questi elementi ghiandolari, si trova un connettivo a struttura finamente fibrillare, riccamente infiltrato, specialmente in alcuni punti, di cellule rotonde, e più o meno abbondante nelle varie parti del tumore. In alcuni punti infatti le ghiandole sono strettamente addossate l'una all'altra, e allora il connettivo fibrillare interposto è ridotto al minimo; in altri invece il connettivo è più abbondante, e forma delle specie di papille. Lo strato ghiandolare è continuo su tutta la superficie del tumore, tranne in un punto, in corrispondenza cioè dell'inserzione del peduncolo del tumore, dove esso si introflette a ridosso del peduncolo stesso, per continuarsi col rivestimento cutaneo di questo. Appena al di sotto dello strato ghiandolare, si trova uno straterello di grossezza pressochè uniforme in tutto il tumore, intensamente colorato, costituito da elementi allungati, fusiformi, a nucleo bastonciniforme, i quali rappresentano delle fibre muscolari lisce. Questo strato corrisponde alla *muscolaris mucosae.*

Un sottile strato di tessuto connettivo lasso, scarsissimo in alcuni punti, lo separa dai cul di sacco ghiandolari dello strato soprastante. In qualche punto si osservano dei fascetti muscolari, che si spingono a varia altezza fra i tubi ghiandolari.

Al di sotto di questo si trova un altro strato di spessore variabile, costituito da tessuto connettivo abbastanza ricco di elementi cellulari, fornito di numerosi vasi sanguigni di vario calibro, e a pareti per lo più notevolmente ispessite. Entro questo tessuto si notano qua e là degli ammassi cellulari speciali, non nettamente limitati, colorati intensamente, i quali non sono altro che follicoli linfatici. Ammassi analoghi, in forma più o meno diffusa, si osservano anche in corrispondenza della parte più profonda dello strato ghiandolare.

Zona media. — Al di sotto di questo strato connettivo esiste uno strato di notevole spessore, costituito da fasci di fibre muscolari lisce, dirette in vario senso, ma prevalentemente in senso trasversale nel piano più esterno, e longitudinale in quello più interno. Fra questi fasci muscolari esiste un tessuto connettivo più o meno abbondante e ricco di vasi.

Zona centrale. — Appare chiara. È costituita da un tessuto connettivo a larghe maglie, e prevalentemente da tessuto adiposo. Contiene numerosi vasi sanguigni di vario calibro.

Dalla descrizione del tumore è facile pensare che ci troviamo dinanzi ad uno di quei tumori congeniti dell'ombelico descritti dai vari autori sotto diversi nomi (enteroteratomi, adenomi, ecc.).

Quale è l'origine di questi tumori?

Küstner nel suo primo lavoro, sostenne che questi tumori dipendono da un resto dell'allantoide, e si sforzò di confermare il suo asserto coi reperti di *Ahlfeld* (18), di *Ruge* (19) ed altri, sulla persistenza dell'allantoide, e coll'esame da lui praticato sul cordone ombelicale dei neonati, nei quali sostenne di aver trovato quasi sempre i resti della vescicola allantoidea.

Poco dopo però *Küstner* stesso abbandonò questa idea, giacchè fu dimostrato che il resto della allantoidea extrafetale, nel feto a termine, non contiene epitelio, e tanto meno ghiandole, e che del resto l'epitelio dell'allantoide è così diverso da quello che forma il rivestimento di questi tumori che è impossibile pensare che da esso derivi lo strato ghiandolare caratteristico degli enteroteratomi.

Questi resti dell'allantoide possono bensì dare origine a dei tumori congeniti ombelicali (vedi il caso descritto da *Guzzoni degli Ancarani* (20)), ma il reperto istologico di questi tumori, costituiti per la massima parte di tessuto connettivo, è affatto diverso da quello degli enteroteratomi, nei quali abbonda l'elemento ghiandolare. Secondo *Kolaczek* (2) invece questi tumori sono da ascriversi alla persistenza di un diverticolo normale fetale dell'intestino, il quale passando per l'ombelico mette capo alla vescicola ombelicale (dotto onfalo mesenterico). Questa ipotesi è assai più verosimile della prima, e più facilmente ne spiega la struttura delle ghiandole che costituiscono per lo più questi tumori, struttura affatto simile a quella dell'intestino. A conferma di questa spiegazione stanno i molti casi di fistole ombelicali congenite, e di altre alterazioni che riconoscono la medesima origine.

I lavori di *Ahlfeld* (18), di *Zini*, di *Kölliker* (21), di *Pestalozza* (22) ecc., dimostrarono che in alcuni casi il condotto onfalo mesenterico può persistere nel feto fino ad un'epoca molto vicina alla nascita.

In altri casi si è constatata la esistenza di un diverti-

colo vitello-intestinale. Così nei casi di *Sandifort*, di *Schulze*, di *Tiedmann*, di *Ludwig* e di *Tilling*, citati da *Cazin* (23).

La presenza a livello dell' ombelico, di un diverticolo intestinale costituito da un residuo del condotto onfalo mesenterico, non è quindi un fatto molto raro. È appunto a spese di questo diverticolo che si formano gli adenomi. Esso racchiude in sè gli elementi del tumore.

Credo inutile riassumere anche brevemente i dati embriologici sui quali si basa la interpretazione dei tumori e delle altre anomalie che prendono origine dal dotto onfalo mesenterico o dai suoi resti. *Häusen* (24), divide queste anomalie nel seguente modo (¹):

1) Permanenza del condotto vitellino pervio, dalla parete intestinale fino all' anello ombelicale o anche fin dentro il cordone. In questo caso si può stabilire una fistola ileo ombelicale.

2) Permanenza del condotto vitellino nell' interno del cordone ombelicale, ma chiusura di esso a partire dall' anello ombelicale verso la cavità addominale. È a questa contingenza embrionale che devono riferirsi gli enteroteratomi o adenomi dell' ombelico, e certi tumori cistici della cicatrice ombelicale, come quello osservato da *Roser* (16).

3) Permanenza del condotto nell' interno della cavità addominale, ma chiusura verso l' ombelico. Si ha il diverticulum ilei.

Nel caso in cui si abbia la chiusura anche verso l' intestino, si possono formare delle cisti da ritensione.

Da questa rapida classificazione è facile capire come i tumori che vanno sotto il nome di adenomi ombelicali, siano forme non nettamente distinte da altre anomalie che non si considerano come tumori, nel senso comunemente attribuito ora a questa parola. Si capisce perciò come parecchi autori ritengano improprio per queste produzioni il nome di ade-

(¹) Ho riunito in uno solo i primi 2 gruppi di *Hansen* sembrandomi in realtà essi ne formino uno solo.

nomi, e preferiscano quello di enteroteratomi, riservando la denominazione di adenomi alle forme neoplastiche vere.

Nella descrizione del tumore da me riferita, come in quella di tutti i casi citati, risulta dimostrata la costante presenza della tonaca mucosa sulla superficie esterna del tumore, mentre la tonaca muscolare è al centro. Data l'origine universalmente accettata per questi tumori, come si spiega questo fatto?

Secondo *Chandelux* il diverticolo fa ernia arrovesciandosi come un dito di guanto, in modo che la sua superficie mucosa diventa superficiale, e la sua tonaca muscolare diventa centrale: ci sarebbe quindi invaginamento.

Per *Lannelongue* il meccanesimo è diverso, ed egli lo spiega così:

Il diverticolo intestinale, che in questi casi fa parte anormalmente del cordone, viene ad essere diviso al pari di tutte le altre parti, nel taglio del cordone, e resta perciò aderente alla superficie addominale su tutta la sua superficie esterna. Questa infatti, essendo costituita dalla sierosa peritoneale, si troverà nelle condizioni migliori per una facile e pronta aderenza.

La cosa è ben diversa per la superficie interna del diverticolo, dove si trova la tonaca mucosa propriamente detta. Questa tonaca sarà sezionata anch'essa in tutta la sua estensione, per quanto si potrebbe anche pensare che la sezione non interessasse qui tutta la circonferenza. Ma mentre ai margini la mucosa contrarrà aderenze fondendosi colle parti vicine, la superficie interna che non fu ravvivata (cruentata) ed è ricoperta dal suo epitelio ordinario, non si troverà in condizioni così favorevoli per saldarsi. Non si deve dimenticare inoltre che in causa del progressivo restringersi della cavità dell'infundibolo, si formeranno delle ripiegature speciali nella mucosa.

Dal complesso di queste cause appare evidente che la mucosa centrale non avrà tendenza a partecipare ad una fusione cicatriziale, a livello della apertura ombelicale. Essa rimane perciò esposta a una procidenza che può essere di 2

gradi. Nel primo caso la procidenza sarà generale: si dovrà osservare allora al centro del tumore una specie di infundibolo in comunicazione coll'intestino, a meno che il processo di cicatrizzazione non abbia condotto alla obliterazione dell'ernia centrale dell'infundibolo. *Lannelongue* non potè osservare questo fatto nei casi ch'egli ebbe in esame.

Egli ammette per questi tumori da lui esaminati, il 2° caso, — una procidenza parziale cioè della mucosa, ossia un prolasso laterale, non comprendente che una parte di questa membrana: — il prolasso della mucosa trarrebbe poi con sè gli strati muscolari in connessione con essa. Alla caduta del cordone, questa procidenza si rivela colla presenza di un corpo arrotondato, rossigno, simile ad un ammasso di granulazioni carnee; in seguito, per influenza delle grida e degli sforzi del bambino, in quel periodo in cui la cicatrice ombelicale non offre una resistenza sufficiente, il piccolo tumore aumenta, e prende in pochi giorni il volume di un pisello, o di una nocciola, volume che non fu sorpassato mai nei casi osservati da *Lannelongue*.

Come si può spiegare ora la struttura e la patogenesi degli adenomi così detti stomacali?

Il caso classico nella letteratura di adenoma a tipo gastrico, è quello di *Tillmann*. Un caso analogo fu poi descritto da *Roser* nel 1887, e un altro da *Siegenbeck van Heukelom* nel 1888.

Tillmann, sotto il titolo di « prolasso congenito della mucosa gastrica attraverso l'anello ombelicale (ectopia ventriculi) » descrisse un caso occorsogli nel 1883, in un ragazzo di 13 anni.

Si trattava di un tumoretto della grossezza di una noce, attaccato per un sottile peduncolo all'ombelico; — era indolente alla palpazione, — irriducibile.

La superficie del tumore secerneva un succo torbido filante, mucoso, a reazione acida, che si faceva più abbon

dante in seguito a irritazioni esercitate sul tumore, tantochè in 15–20 minuti se ne potevano raccogliere due o tre cmc. Il tumore non presentava nè aperture nè canali. S'era presentato alla caduta del cordone ombelicale, il quale era più grosso che di norma, e di forma come clavata, al 5°, 6° giorno, ed aveva allora la grossezza di una ciliegia. Non si ebbe mai fuoriuscita di feci o di sostanze alimentari in corrispondenza dell'ombelico. La defecazione era stata sempre regolare. L'A. credette dapprima che si trattasse di un diverticolo di *Meckel*, o di un prolasso dell'uraco. Ma la reazione acida del secreto, il suo potere digestivo in contatto della fibrina, nella stufa a 39°, e infine l'esame microscopico, dimostrarono che si trattava realmente di mucosa gastrica.

L'esame microscopico, eseguito dal prof. *Weigert*, dimostrò che si trattava della parete dello stomaco arrovesciata in fuori in tutto il suo spessore; al centro la sierosa e la sottosierosa, poi la muscolare, infuori la mucosa colla sottomucosa. Le ghiandole erano straordinariamente numerose, ricoperte da un epitelio cilindrico, ramificate, in tutto corrispondenti alle ghiandole descritte da *Heidenhain* come caratteristiche della regione pilorica. La figura unita al lavoro non può lasciar dubbio in proposito.

Roser nel 1887 descrisse un caso analogo, occorsogli nella Clinica Chirurgica di Marburg, in un bambino di un anno e mezzo. L'ombelico si presentava rigonfio, e da esso usciva un liquido sieroso, acido, che facilmente intaccava le parti vicine. L'apertura si presentava arrossata, granuleggiante, a margini ispessiti; la cavità aveva un diametro di 1 cm. L'esame microscopico del pezzo esportato, eseguito dal prof. *Marchand*, dimostrò in esso la struttura della mucosa gastrica; ghiandole tubolari fittamente addossate, e un substrato di abbondanti fibre muscolari liscie, corrispondenti alla parete muscolare dello stomaco.

Dal medico che aveva avuto precedentemente in cura il bambino, l'A. seppe che in corrispondenza dell'ombelico, egli aveva aperto un tumore simile ad un ascesso, e l'aveva parecchie volte cauterizzato.

L'A. conclude doversi quindi trattare di una cisti, in forma di ascesso, nella quale, in seguito alla praticata apertura, s'era formata una fistola.

Siegenbeck infine nel 1888 riferisce un caso osservato in un bambino di due anni e mezzo. Si trattava di un tumoretto del volume di una nocciola, di colorito rosso, umido in superficie, provvisto di un peduncolo corto e sottile che lo attaccava all'ombelico.

All'esame istologico il tumore si presentò costituito da 2 strati ben distinti. Lo strato corticale, di spessore uniforme in tutto il tumore (2 mm. circa) era formato da una mucosa con numerosi tubi ghiandolari allungati, poco connettivo interstiziale e piccoli nodi di tessuto adenoide alla base dei tubi ghiandolari. Esisteva una *muscolaris mucosae* separata dalla parte interna del tumore da un connettivo lasso poco abbondante. La parte interna del tumore era costituita prevalentemente da fasci di fibre muscolari liscie, con vasi e poco connettivo.

L'insieme del tumore faceva pensare ad una derivazione dal tubo intestinale.

L'esame istologico accurato dimostrò che i tubi ghiandolari erano provvisti di un epitelio identico a quello rappresentato nelle figure di *Tillmann*. C'erano però altri tubi a epitelio più basso, a protoplasma torbido, e a nucleo collocato più verso il centro del corpo della cellula. Questi tubi assomigliavano quindi di più all'epitelio dell'intestino, per quanto mancassero assolutamente le cellule caliciformi.

Gli ammassi di tessuto adenoide erano troppo grandi per appartenere alla mucosa dello stomaco; la quantità di tessuto muscolare era invece troppo scarsa per questa parete. L'A. era perciò in dubbio se attribuire l'origine del suo tumore ad un diverticolo di *Meckel*, o, accettando l'opinione di *Tillmann*, ad un diverticolo dello stomaco; per quanto ritenesse quest'ultimo caso come poco probabile.

A proposito dell'origine e del modo di formazione questi adenomi stomacali, le opinioni dei diversi autori s molto discordi.

Tillmann nel suo caso credette si trattasse in realtà di un' ernia ombelicale, con inclusione di un diverticolo dello stomaco. Egli ne spiega l'origine in questo modo:

Il cordone ombelicale, che si presentava più grosso della norma, quasi imbutiforme, fu molto probabilmente tagliato dalla levatrice troppo vicino all' anello ombelicale, ed è probabile che insieme fu tagliato anche il diverticolo stomacale che arrivava fino nel cordone ombelicale. Questo diverticolo, alla nascita, non era più in aperta comunicazione colla cavità dello stomaco, ma probabilmente era congiunto ancora alla parete dello stomaco da un cordone solido, come si osserva in casi analoghi di diverticoli di *Meckel*, aperti verso l'ombelico, e chiusi verso l' intestino. Lo stiramento del cordone solido che congiungeva il diverticolo (fissato all' anello ombelicale) colla parete dello stomaco, nella regione pilorica, fece sì probabilmente che anche la cavità dello stomaco nella regione pilorica fosse dilatata in forma di diverticolo.

Come accade ora in certi casi di veri diverticoli di *Meckel*, anche nel nostro caso, continua *Tillmann*, il diverticolo stomacale chiuso verso l' interno, e aperto verso l' ombelico, alla caduta del cordone ombelicale, si arrovesciò all' infuori, in parte probabilmente in seguito alla pressione addominale ed alla retrazione cicatriziale dell'anello ombelicale. Così si formò un tumore peduncolato, con un rivestimento esterno continuo di mucosa.

All' interno si trovava la tonaca muscolare, indi la sierosa, che a poco a poco si era saldata. Il peduncolo, come un cordone di congiunzione colla parete dello stomaco intraaddominale, conteneva i vasi. Questo peduncolo si era nel corso degli anni, forse in seguito alla retrazione cicatriziale dell' ombelico, sempre più assottigliato, sicchè ormai non constava più che dei vasi. L' A. ritenne il suo caso come molto importante, poichè veniva a dimostrare con esso la possibilità che in un' ernia del cordone ombelicale, venga a trovarsi anche un diverticolo dello stomaco. Abnormi aderenze della parete stomacale nel feto, condurrebbero a queste anomalie.

Il fatto acquistava poi un'importanza anche maggiore, perchè per la prima volta veniva rilevato dal *Tillmann*.

Roser, a proposito del suo caso, conferma pienamente le vedute di *Tillmann* circa il modo di origine di questi tumori, e aggiunge: « Il fatto si spiega tanto più facilmente se si pensa che nel feto il piloro ha una posizione diversa da quella che assume in seguito; che lo stomaco è verticale, e che perciò il piloro è avvicinato all'ombelico.

Se si immagina che una parte di questa parete dello stomaco fetale abbia aderito all'ombelico, e che poi il piloro si ritragga, si avrà per conseguenza la formazione di un diverticolo, il distacco successivo di esso, e la formazione di una cisti ».

Siegenbeek van Henkelom, spiega invece questa origine in un modo assai diverso.

È facile dimostrare, egli dice, che l'affermazione di *Roser* si basa su un errore. Esaminando una serie di embrioni umani *Siegenbeck* potè dimostrare che l'enorme massa del fegato che si trova fra l'ombelico e il piloro, e che occupa uno spazio tanto più grande quanto più giovane è l'embrione, rende impossibile un'aderenza del piloro all'ombelico come vorrebbero *Roser* e *Tillmann*. Il piloro è situato in profondità, lontano dall'ombelico e non mai vicino ad esso; non è il caso quindi che esso possa ritrarsi.

Esso non ha alcun rapporto coll'ombelico, e tanto nel feto come più tardi, è situato a grande distanza da esso, presso la colonna vertebrale. Di questo fatto, chiunque può facilmente convincersi.

L'A. dice che egli fu anche più fortunato. In un feto quasi a termine trovò nel punto classico, sull'ileo, un bellissimo diverticolo di *Meckel*, lungo circa 5 millimetri. Nelle sezioni praticate dopo inclusione del pezzo in colloidina, egli ebbe la fortuna di trovare alla estremità appuntita del diverticolo, un frammento di intestino isolato, separato dal rest dell'intestino. Che esso fosse realmente isolato lo provavan due circostanze. In primo luogo si potè stabilire che esistev dappertutto uno strato di tessuto muscolare e di tessuto co

nettivo fra il frammento di intestino chiuso, isolato, e il diverticolo in aperta comunicazione coll' intestino. Esaminando tutte le sezioni potè eliminare ogni dubbio su questo punto. In secondo luogo, e questo era molto più importante, esisteva una grande differenza fra la mucosa dell' intestino e del diverticolo di *Meckel* da una parte, e la mucosa del frammento di intestino staccato dall' altra.

Le cellule epiteliali della mucosa intestinale erano come di solito non nettamente limitate, un po' appiattite, e provviste di grandi nuclei ovali che si trovavano un poco, ma assai poco, più avvicinati alla faccia basale o profonda delle cellule, che non alla loro faccia superficiale. Soltanto le cellule nettamente caliciformi e contenenti degli ammassi di muco chiari, voluminosi, trasparenti, e occupanti quasi tutto il corpo cellulare, mostravano il loro nucleo appiattito, e applicato contro la faccia profonda. Il protoplasma era molto finamente granuloso e più o meno colorato in giallo.

Tale era la struttura dell' epitelio dell' intestino nel punto nel quale aveva sede il diverticolo di *Meckel*, come pure nel digiuno, e nel diverticolo di *Meckel* stesso in tutto il tratto liberamente comunicante coll' intestino.

Ma il frammento isolato dell' intestino aveva un epitelio le cui cellule erano regolarissime, nettamente limitate, di forma cilindrica allungata; il loro protoplasma era completamente incoloro, trasparente, molto rifrangente, e il loro nucleo, piccolo, giaceva proprio alla base della cellula. Mancavano assolutamente cellule caliciformi.

Mentre esistevano differenze così notevoli fra queste due specie di epitelî, esisteva una perfetta somiglianza fra l' epitelio descritto per ultimo e quello del piloro dello stesso individuo, tanto per l' aspetto del protoplasma che per la posizione dei nuclei, e i rapporti collo strato sottostante delle cellule di tessuto connettivo.

L' A. conclude: Esiste dunque nel diverticolo di *Meckel* da me studiato, una parte di intestino isolata, la cui mucosa presenta una struttura assolutamente identica a quella del piloro dello stesso individuo.

A proposito del suo caso di tumore ombelicale, l' A. si rivolge ora due domande: 1ª) Come si può spiegare il fatto che l' epitelio della parte isolata del tubo digestivo è così diverso da quello dell' ileo che gli sta vicino? 2ª) È possibile, in base a questa osservazione spiegare la formazione delle ectopie dello stomaco all' ombelico senza ricorrere a un processo strano come hanno fatto *Tillmann* e *Roser?*

Alla prima domanda *Siegenbeck* risponde così:

Nei giovani embrioni il tratto intestinale è tappezzato da un epitelio (endoderma) che è dappertutto uguale, e costituito da un solo strato di cellule, senza che il tubo digestivo presenti delle ripiegature.

Soltanto più tardi si vedono comparire delle differenze fra l' epitelio dello stomaco e quello dell' intestino, e contemporaneamente si distinguono delle pieghe e delle invaginazioni, che diventeranno più tardi delle ghiandole. Per quanto io ho osservato, questa differenza fra l' epitelio dello stomaco e quello dell' intestino, non si manifesta se non quando nell' intestino si trova del meconio, o più esattamente quando il tubo intestinale contiene delle masse colorate. Poichè nel nostro caso noi vediamo che la parte isolata dell' intestino la quale non è in contatto col contenuto intestinale, mentre è sottoposta a tutte le altre condizioni alle quali è sottoposto l' intestino, possiede un epitelio diverso da quello dell' intestino, un epitelio che assomiglia a quello dello stomaco, allora sorge spontanea l' idea che la modificazione dell' epitelio dipenda dal contenuto intestinale.

Ma si dirà: Perchè le cellule epiteliali dello stomaco non si modificano? Eppure il meconio attraversa anche lo stomaco. Bisogna quindi ammettere che il meconio non contiene l'agente che provoca questa trasformazione dell' epitelio. Questo agente sarebbe la bile. Allorchè l'azione della bile non può esercitarsi, lo sviluppo delle cellule epiteliali segue un altro corso. Esse diventano cellule lunghe, cilindriche, come avvenne nel no tratto isolato di intestino, e nello stomaco, dove la bile si trova.

Alla seconda domanda *Siegenbeck* così risponde: È

versalmente ammesso che i diverticoli di *Meckel* possono dar luogo a ectopie in corrispondenza dell' ombelico. Il fatto da noi constatato che in un diverticolo di *Meckel* esisteva una parte isolata dell' intestino i cui elementi epiteliali avevano i caratteri di quelli del piloro, ci permette di spiegare i casi di *Tillmann* e di *Roser* in modo diverso da quanto fecero i due citati autori. In questi casi, come in quello da me riferito, fu appunto questa parte di intestino che in seguito al taglio del cordone ombelicale, si aprì all' esterno.

Tutto diventa così chiaro e evidente.

La genesi delle ectopie intestinali in corrispondenza dell' ombelico, è una sola, e non è necessario ricorrere alla spiegazione poco convincente, dei diverticoli dello stomaco.

Si potrebbero però fare due obbiezioni:

1° Da che cosa dipende la secrezione acida?

2° Com' è che si trovano delle ectopie con delle vere cripte di *Lieberkühn*?

Alla prima obbiezione, dice *Siegenbeck*, io confesso di non poter dare una risposta soddisfacente. Noi abbiamo visto che se l' epitelio dell' intestino si sviluppa senza essere sottoposto alla influenza della bile, esso diventa morfologicamente identico all' epitelio del piloro. Si può pensare quindi con una certa verosomiglianza che l' epitelio dello stomaco e quello del tratto separato dell' intestino, i quali provengono dalla stessa origine, e si sono sviluppati morfologicamente allo stesso modo, debbano comportarsi allo stesso modo anche fisiologicamente; o in altri termini che l' epitelio di una parte di intestino che si è staccato da esso prima che incominci la secrezione della bile, allorchè comincia a secernere, secerna un liquido acido.

Questa conclusione non è appoggiata da prove, non è basata che su una ipotesi. Ma io preferisco avanzare questa ipotesi, anzichè ammettere che nei casi in questione si tratti di un diverticolo dello stomaco, opinione questa che non si appoggia su alcuna base anatomica, e che appare come inverosimile.

Alla seconda obbiezione è facile rispondere. Basta pen-

sare che in questi casi il distacco di una parte dell' intestino, sia avvenuto più tardi, quando l'epitelio cioè ha già subìto la sua differenziazione per azione della bile.

Questo modo di vedere di *Siegenbeck*, fu confermato in un caso da *Lexer* (25). Si trattava di una fistola congenita per persistenza del canale vitellino. Il secreto della fistola si comportava chimicamente come il succo gastrico. Dopo l'operazione si trovò fra l'ombelico e l'intestino tenue un cordone pervio lungo circa 8 cm. il cui lume era interrotto a 1 cm. e mezzo circa dietro l'ombelico. Le due parti del condotto si presentavano all' esame istologico assai diverse l' una dall' altra, in quanto che, mentre il rivestimento del tratto che comunicava coll' intestino era simile alla mucosa dell' intestino tenue, quello della porzione esterna assomigliava in generale alla mucosa del piloro. Si trattava quindi della persistenza del condotto vitellino, originariamente continuo, nel quale, in seguito ad una precoce divisione, le due parti avevano subito uno sviluppo diverso nel loro rivestimento mucoso.

Come si potrebbe spiegare ora l' origine del tumore da me descritto?

Esso presentava, come abbiamo visto, nella massima parte della sua estensione la struttura caratteristica della mucosa della regione pilorica dello stomaco. Ed io non dubito che se si fosse fatto l' esame chimico del secreto, questo avrebbe mostrato una grande analogia col succo gastrico. Solo in un punto, e per un tratto non molto esteso, la struttura ricordava perfettamente quella della mucosa intestinale, colle caratteristiche ghiandole di *Lieberkühn*, con cellule caliciformi ecc.

Le due porzioni si continuavano però direttamente l'una nell' altra in modo da formare un rivestimento continuo al tumore. Abbiamo notato anzi che la zona di passaggio fra due tipi ghiandolari non era netta, ma che in corrispondenza di essa, si trovavano ghiandole di *Lieberkühn* miste a ghia

dole piloriche. La teoria di *Siegenbeck* non può evidentemente valere in questo caso. D' altra parte la presenza di isole di tessuto che riproducono la struttura della mucosa intestinale, nella parete dello stomaco, e precisamente nella regione pilorica, è ammessa dagli autori, e *Kölliker* (26) nel suo classico trattato, la conferma pienamente. « Ausser den Pylorusdrüsen, welche in typische Magengruben münden, finden sich in der Nähe des sphincters bis in eine Entfernung von 1-2 cm. zwischen den Magengruben auch typische Lieberkühn' sche Drüsen welche zerstreut da und dort in grösseren oder kleineren Gruppen die Schleimhaut durchsetzen ». Per quanto non si possa negare l' importanza delle osservazioni di *Siegenbeck* relativamente alla posizione del piloro negli stadii embrionali, e alla consecutiva difficoltà allo stabilirsi di aderenze fra il piloro e l' ombelico, per dare una spiegazione soddisfacente del mio caso, si è quasi forzati a ritornare all'ipotesi del *Tillmann*; a meno che non si potesse dimostrare, ciò che finora nessuno credo abbia sostenuto, che in un diverticolo di *Meckel* in aperta comunicazione coll' intestino, possano trovarsi dei tratti di mucosa che riproducono la struttura della regione pilorica dello stomaco. Il distacco del tratto di diverticolo che darà poi origine al tumore sarebbe avvenuto quando la differenziazione dei varî tipi di ghiandole aveva già avuto luogo, e così si spiegherebbe la presenza nel tumore di ghiandole di *Lieberkühn* e di ghiandole piloriche.

In questo senso, e a proposito di una questione non ancora risolta, credo che il caso da me riferito, già abbastanza interessante per la grossezza del tumore, per l' età del paziente e per la scarsezza di osservazioni simili, possa avere una certa importanza.

Bibliografia.

(Lavori citati nel testo).

1. Küstner, Notiz über den Bau des Fongus ombilicalis. (Archiv f. Gynäk., 1877, Bd. IX, Heft 3°). — Das Adenom und die Granulationsgeschwulst am Nabel der Kinder. (Virchow's Archiv, 1877, Bd. 69, pag. 286).
2. Kolaczek, Beiträge zur Geschwülstlehre. (Archiv f. klin. Chir., 1875, Bd. 18, pag. 349). — Kritisches zu den sogen. Adenomen (Küstner) am Nabel der Kinder. (Virchow's Archiv, 1877, Bd. 69, pag. 537).
3. Fischer, citato da Kolaczek. (Archiv f. klin. Chir., 1875.
4. Chandelux, Observations pour servir à l'histoire de l'exomphale. Exomphale funiforme diverticulaire inversé. (Archives de Physiologie, 1881, 2me série, pag. 93).
5. Lannelongue et Frémont, De quelques variétés de tumeurs congénitales de l'ombilic, et plus spécialement des tumeurs adénoïdes diverticulaires. (Archives génér. de Médecine, 1884, pag. 53).
6. Villar, Tumeurs de l'ombilic. (Paris, Baillière, 1886).
7. Le-Roy, riportato da Villar, Tumeurs de l'ombilic, pag. 58.
8. Tillmann, Ueber angeborenen Prolaps von Magenschleimhaut durch den Nabelring (Ectopia ventriculi) und über sonstige Geschwülste und Fisteln des Nabels. (Deuts. Zeitsc. f. Chir., 1883, Bd. 18, Heft 1-2).
9. Ferrari, Adenoma dell'ombelico. (Giornale internazionale delle Scienze mediche, 1882.
10. Ajello, Contributo alla genesi embrionale di un adeno-epitelioma cistico primitivo dell'ombelico. (Riforma medica, 1899, n. 206, 207, 208, 209).
11. Tillaux, Epithelioma de l'ombilic. (Ann. de Gynec. et d'Obst., 1887).
12. Hüttenbrenner, Ueber den histologischen Bau des Sarcomphalus bei Kindern. (Prager Zeitschrift f. Heilkunde, Bd. 3, pag. 1).
13. Sadler, Deut. Zeitschrift f. Chir., 1883, Bd. 18.
14. Emmet Hott, New-York medic. Record, 1888.
15. Stori, Contributo allo studio dei tumori dell'ombelico. (Lo Sperimentale, 1900, pag. 25).
16. Roser, Zur Lehre von der umbilikalen Magencystenfisteln. (Centralblatt f. Chir., Bd. XIV, pag. 260, 1887).
17. Siegenbeek van Heukelom, Die Genese der Ectopia ventriculi am Nabel. (Virchow's Archiv, 1888, Bd. 111).
18. Ahlfeld, Archiv f. Gynäk., Bd. VIII.
19. Ruge, Ueber die Gebilde im Nabelstrang. (Zeits. f. Gynäk, 1877).
20. Guzzoni degli Ancarani, Gazzetta medica di Torino, 1889.
21. Kölliker, Entwickelungsgeschichte etc. (Leipzig, 1879).

22. Pestalozza, Bollettino della Società medico-chirurgica di Pavia, 1889, n. 2.
23. Cazin, Étude sur les diverticules de l'intestin. (Thèse de Paris, 1862).
24. Hausen, Ein Beitrag zur Persistenz des Ductus omphalo-entericus. (Inaug. Diss., Kiel, 1885).
25. Lexer, Magenschleimhaut im persistirenden Dottergang. (Langenbeck's Archiv f. klin. Chir. 1899, Bd. 59, pag. 859, 1900; Centralblatt f. Allg. Pathol. und Path. Anat., Bd. XI, pag. 571).
26. Kölliker, Handbuch der Gewebelehre des Menschen, Bd. 3, pag. 163.

(Altri lavori consultati).

Pernice, Die Nabelgeschwülste. (Halle, 1892).
Taruffi, Storia della Teratologia, vol. VII. (Bologna, 1894).
Küster, Die Neubildungen am Nabel Erwaschsener. (Archiv. f. klin. Chir., XVI, pag. 234, 1874).
Blum, Tumeurs de l'ombilic chez l'adulte. (Archives Génér. de Médecine, 1876, vol. 2°).
Codet de Boisse, Tumeurs de l'ombilic. (Thèse de Paris, 1888).
Feré, Sur les fungosités de l'ombilic chez les nouveau-nés. (Bull. de la Soc. Anat., séance du 25 août 1879).
Kern, Ueber das offene Meckel'sche Divertikel. (Beitr. z. klin. Chir., Bd. XIX, 1896).
Morian, Ueber das offene Meckel'sche Divertikel. (Archiv f. klin. Chir., Bd. 57, 1898).
Mintz, Das wahre Adenom des Nabels. (Deut. Zeitschrift f. Chir., Bd. 51, 1899).
Preisz, Ueber d. sog. Nabeladenom. (Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 33, 1891)
Camus, Sur un cas de volumineux diverticule de Meckel. (Bull. de la Société Anat., Paris, 1901, n. 3, pag. 265).
Duplay et Reclus, Traité de Chirurgie, vol. VI, pag. 335.
Steinthal, Sui difetti di sviluppo del condotto vitellino e loro conseguenze. In « Trattato di Chirurgia pratica » di Bergmann, Bruns e Mikulicz, vol. 3°, pag. 26.
Durante, Trattato di patologia e di terapia chirurgica. (Roma, 1895).
Lücke, Trattato dei tumori. Nell' Enciclopedia di Pitha e Billroth.
Nicaise, Articolo « Ombilic » nel Dictionnaire encyclopédique de Deschambre.
Hertwig, Traité d'Embryologie. (Paris, 1900).
Minot, Human Embryology. (New-York, 1892).
Prenant, Éléments d'Embriologie. (Paris, 1891).
Franchomme, Anomalies de regression du canal vitellin. (Thèse. Lille, Bigot frères, 1893).

Spiegazione delle figure.

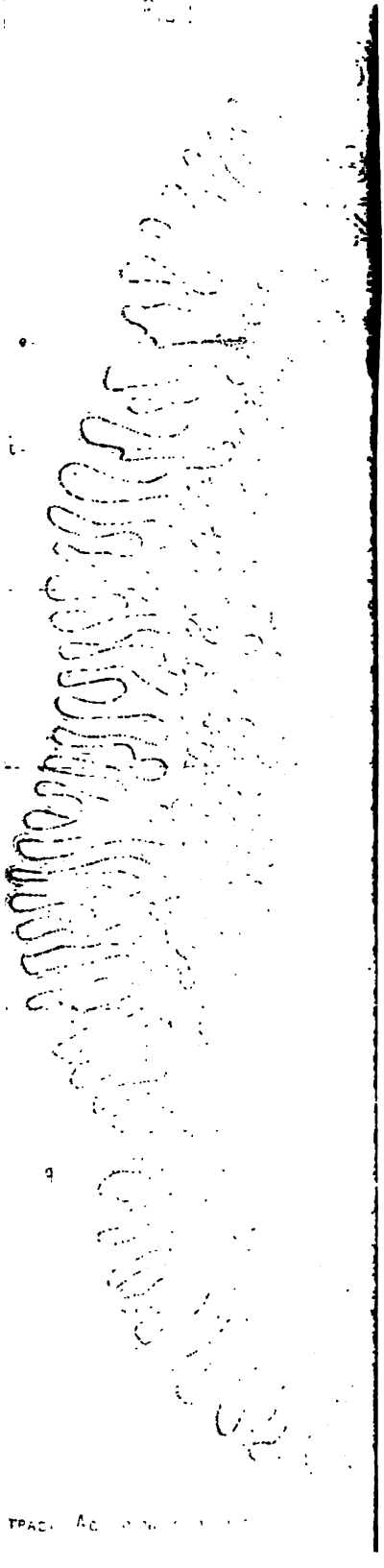
FIGURA 1. — (Ingrandimento 15 diametri). — Sezione verticale completa del tumore.

A) Zona corticale (mucosa). — *B*) Zona media (muscolare). — *C*) Zona centrale (sierosa). — *D*) Tratto della mucosa con ghiandole di Lieberkühn. — *E*) Follicoli linfatici. — *F*) Zona di impianto del peduncolo. — *G*) Dilatazioni cistiche dei tubi ghiandolari.

FIGURA 2. — (Ingrandimento 90 diametri). — Ghiandole di tipo pilorico.

FIGURA 3. — (Ingrandimento 90 diametri). — Ghiandole a tipo Lieberkühn.

rimentale - Archivio di Biologia



TPAC: Ac

(Istituto di Patologia generale del R. Istituto di Studi superiori in Firenze, diretto dal Prof. A. Lustig).

RICERCHE E OSSERVAZIONI SUL PIEDE DI MADURA

DEL

DOTT. G. POLVERINI

Aiuto.

La malattia che viene comunemente indicata col nome di *Piede di Madura* o *Micetoma*, è poco nota nella letteratura italiana. Anzi si può dire che, salvo il caso descritto alcuni anni or sono da *Bassini* (1), non ne esistano altri degni di nota.

Quasi tutte le altre osservazioni che sono state fatte in Europa furono eseguite su del materiale mandato specialmente dall'India, cosicchè se si è potuto illustrare la malattia dal lato isto-patologico, si son dovute in generale trascurare le osservazioni cliniche e batteriologiche di ogni singolo caso. Dall'altro lato, quelli che hanno studiato la malattia nel paese ove essa è più frequente, se si eccettua il *Vincent* e qualche altro (2, 3), si sono solamente occupati o della parte clinica, o della parte batteriologica isolatamente. Cosicchè io, che durante il mio soggiorno in India ho avuto l'opportunità di studiare clinicamente e batteriologicamente alcuni casi e particolarmente quello che qui sotto descriverò, e di proseguirne poi lo studio istologico nel laboratorio di Firenze, ho creduto di fare cosa utile pubblicando i resultati delle mie osservazioni che mi sembrano abbastanza complete.

Considerazioni generali. — Credo utile premettere in breve alcune nozioni generali su questa malattia.

Essa è propria dei paesi caldi, però non esclusivamente del Sud dell'India come il nome *Piede di Madura* potrebbe far supporre; essa

si riscontra con frequenza in tutta l'India anche nelle regioni le più al Nord, ed ultimamente qualche caso ne è stato descritto nel Sudan, in Algeria, in Egitto, in China, nell'America del Nord e del Sud, ed anche *Bassini* (1) ne ha descritto un caso da lui osservato in Italia sopra un italiano, che mai si era mosso dal suo paese. Le prime vaghe notizie sopra una malattia molto somigliante al *Piede di Madura* risalgono al 1712, e sono opera dei medici inglesi addetti al servizio sanitario della famosa Compagnia delle Indie orientali. Il *Godfrey* (4) poi, nel 1843 descrisse varii casi di una malattia da lui chiamata tubercolosi del piede, e che erano sicuramente, come si può desumere dalla sua descrizione, casi di *Micetoma*. Altri casi furon poi descritti in modo incompleto; ma chi ebbe veramente il merito di far conoscer bene la malattia dal punto di vista clinico e di supporne la natura parassitaria, fu *Vandyke Carter* (5) il quale si occupò di tale argomento dal 1862 al 1874.

Generalmente è il piede la sede preferita, ma si son descritti anche rarissimi casi in cui l'affezione aveva sede nella mano.

Il *Piede di Madura* è una malattia a decorso lento, che comincia quasi sempre con un gonfiore piuttosto diffuso, ma non doloroso alla regione plantare: dopo qualche tempo in corrispondenza di questo punto si vedono sorgere delle piccole tuberosità a forma nodulare del volume di un pisello, che sul principio sono molto dure. Con l'andare del tempo queste nodosità si fanno via via sempre più molli, finchè si rompono e dànno luogo all'escita di un liquido vischioso, purulento, contenente delle piccole masse rotondeggianti, dei granuli simili a piccoli grani di miglio di colore talvolta giallo, talvolta nero. Questi noduli poi si moltiplicano, si fanno strada all'indentro invadendo i tessuti più profondi, e formando dei seni comunicanti fra loro, i quali sono ripieni della stessa sostanza purulenta, che comunica in tal modo coll'esterno; così il piede ingrossa e si deforma, e la deambulazione si fa dolorosa, indi difficile. La malattia procede sempre lentamente per il suo corso; anche le ossa vengono affette, si rammolliscono e così si hanno deviazioni del piede, il quale si trova infine deformato, aumentato di due o tre volte del suo volume normale, di consistenza elastica, presentante nelle parti superficiali delle aperture a bordi rilevati, bernoccoluti, gementi una sostanza purulenta, e ridotto internamente ad una massa gelatinosa, molle, commista a pus, contenente i granuli sopra rammentati. Se a questo si aggiunge l'atrofia dei muscoli della gamba dipendente dalla forzata immobilità dell'arto, si potrà avere un'idea dell'aspetto caratteristico che assume il piede nello stato più avanzato della malattia. L'affezione in generale non si propaga alle parti che si trovano al di sopra dei malleoli, e procede p lungo tempo (anche 10 e 15 anni) senza portare grave nocumento ' condizioni generali dell'ammalato.

I granuli caratteristici, non sono solubili nè nella potassa, nè in et nè in cloroformio, sono di consistenza molle, e se, schiacciati fra due

trini, si osservano al microscopio si vede che sono composti di un fine intreccio di filamenti, che si suddividono come nelle *streptotrichee*, e che in qualche punto si presentano a disposizione raggiata somigliando così molto al fungo che produce l'Actinomicosi. In mezzo all'intreccio dei fini filamenti si trovano numerosissimi leucociti.

Clinicamente si distinguono due forme: la varietà *gialla*, e la varietà *nera* o *melanoide*; c'è chi parla anche di una varietà *rossa*, di cui soltanto qualche raro caso è stato osservato. Le due forme principali però decorrono, per quanto riguarda i sintomi clinici, presso a poco nella stessa maniera, la sola differenza sta nel colore dei granuli che son sospesi nel liquido purulento che infiltra il tessuto ammalato. Nella prima varietà i granuli sono di un colorito giallo, mentre nell'altra varietà essi hanno un colorito nerastro che li fa molto rassomigliare a granelli di polvere da mine. Nella varietà rossa i granuli avrebbero un colorito rosso-ruggine. Questi granuli sono formati, come abbiamo detto, da conglomerati di un parassita che è stato riconosciuto come l'agente specifico della malattia, e la diversità di colore dipende o da varietà diverse del parassita, oppure da forme dello stesso parassita in stadio diverso di sviluppo, e secondo alcuni la varietà nera sarebbe una forma degenerativa della varietà gialla.

L'*agente specifico*, che prima *Carter* credeva erroneamente fosse una muffa (*Chionype Carteri*) e che egli aveva isolato dai tessuti ammalati usando metodi primitivi, è stato ora riconosciuto specialmente dopo gli studi di *Boyce* e *Surveyor* (6), di *Vincent* (3), di *Bassini* (1) e di altri, essere un parassita simile (per alcuni identico, *Kanthack* (7)) a quello dell'actinomicosi, cioè una streptotrichea. Anche *Carter* più tardi nel 1886 (8) si accostò a questo modo di vedere, riconoscendo che la sua *Chyonipe Carteri* non aveva niente che vedere col Micetoma.

Riassumendo, il concetto che ci si può formare della malattia è il seguente. L'agente specifico, che molto probabilmente si trova nel terreno, entra attraverso una soluzione di continuo della cute del piede, e là produce dapprima dei fenomeni irritativi, rossore, edema. Intanto si riproduce attivamente formando degli ammassi (come è caratteristica di questo genere di microbi), che costituiscono i granuli gialli o neri intorno a cui si producono dei fatti infiammatori reattivi rilevantissimi, tanto da alterare profondamente la struttura dei tessuti invasi, e si può dire che ognuno di questi granuli sia il centro intorno a cui si sviluppano queste alterazioni. Questi noduli giacciono in specie di cavità formatesi a spese del tessuto distrutto, e siccome vicino al nodulo i fenomeni infiammatorii sono più accentuati, là si ha maggiore essudazione e maggiore infiltrazione leucocitaria e quindi vi si forma quel liquido purulento che riempie le cavità ed avvolge i noduli.

I varii noduli comunicano fra di loro fino all'esterno per mezzo di una specie di seni fistolosi, rappresentanti il cammino che ha fatto il

parassita via via che si è propagato da un luogo ad un altro, dall'esterno verso l'interno. Siccome una specialità del tessuto infiammatorio neoformatosi in questa affezione è quella di essere ricchissimo di vasi, si determinano delle abbondanti emorragie in seguito ad un taglio fatto nel tessuto ammalato.

Premesse queste brevi nozioni passo alla descrizione del più importante caso da me osservato.

Descrizione del caso. — Un giorno in cui visitavo il *Jeejeeboy hospital*, l'ospedale generale per i nativi in Bombay, trovai il chirurgo primario, il dott. *Field* (che son lieto di poter qui ringraziare per la sua cortesia), che era in procinto di fare la disarticolazione di un piede malato di micetoma in una donna indiana dell'apparente età di 40 anni. Della storia seppi solo che i disturbi datavano da circa due anni; la donna si accorse dapprima di un gonfiore alla regione dorsale del piede destro, che non le dava dolore, nè le impediva di camminare, ed a cui essa non dette importanza. A poco a poco in corrispondenza di questo gonfiore si svilupparono due piccole escrescenze dure poco o punto dolenti, e dopo qualche mese essa notò che se ne erano sviluppate altre due. Da duri che erano questi noduletti, si fecero molli, si aprirono e dall'apertura gemeva del liquido giallastro. Quantunque il piede non ingrossasse nè si deformasse, e non aumentasse il numero dei noduli in corrispondenza della regione dorsale del piede, pure dopo poco più di due anni dalla comparsa dei primi disturbi, l'ammalata avvertì dei dolori profondamente dentro al piede, dolori che aumentarono fino a rendere la deambulazione molto difficile. Fu allora ricoverata all'ospedale dove fu fatta diagnosi di *Piede di Madura*, e fu proceduto all'unica cura possibile in questi casi, cioè all'esportazione della parte malata.

All'aspetto la paziente non mostrava di esser deperita in modo speciale, ma nè di essa nè della parte ammalata potei fare l'esame obiettivo, perchè quando io ebbi occasione di vederla tutto era stato preparato per l'atto operativo. All'ispezione il piede non era nè deformato, nè ingrossato, nè mostrava segni di tumefazione, soltanto sulla regione dorsale si notavano alcune piccole aperture a bordi rilevati, di colorito bianchiccio, che spiccavano bene sul rimanente colorito nerastro della pelle La gamba corrispondente non mostrava segni visibili di atrofia; nell'insieme dunque appariva come se la malattia non fosse in uno stadio molto avanzato.

Appena eseguita la disarticolazione, il piede disarticolato fu subito tagliato longitudinalmente per metà, ed io feci subito delle colture in agar e brodo comune, prendendo come materiale i noduletti più centrali, simili a grani di miglio di colore giallastro che si trovavano abbondantemente nella parte più profonda del piede. Sull'esito di queste prove culturali parlerò poi a parte. Il piede, che aveva perduto poco della sua durezza al taglio, presentava nelle due superfici di taglio

l'aspetto come di un nido di api in cui le diverse cavità erano tutte riempite da granuletti di colore giallo chiaro e da un liquido purulento piuttosto scarso, d'aspetto vischioso, oleoso e di colorito pure giallo.

Le cavità erano comunicanti fra di loro e con l'esterno per mezzo di seni, alcune erano isolate, altre raggruppate, e con quei granuletti di grandezza variabile, talvolta sporgenti dalle cavità, prendevano l'aspetto come di una vegetazione a cavolfiore, o a mora di macchia. Nella parte più esterna vicino alla pelle queste cavità erano piuttosto scarse, si facevano più abbondanti via via che si procedeva più all'interno verso il fascio dei tendini e lo strato muscolare, ed in avanti vicino alle articolazioni delle dita, si facevano invece nuovamente scarse in basso man mano che ci si avvicinava alla regione plantare. Dove non esistevano queste cavità i varî tessuti non apparivano per niente alterati ed erano di colorito normale. I granuli e le corrispondenti cavità erano di grandezza varia da un grano di miglio ad un granello di canapa ma non più grossi di così; qualche cavità era vuota perchè i granuli erano usciti fuori od insieme col liquido purulento che gemeva dalle aperture della pelle, o per effetto del taglio. Le cavità in cui questi granuli erano annidati apparivano bene delimitate ed alcune eran rivestite da una specie di parete fibrosa.

Il liquido purulento che riempiva i seni e le cavità, ed in cui i granuli stavano come immersi, non era abbondante, tanto che al taglio poco ne esciva fuori, e si poteva farlo escire solo strizzando il tessuto. Questo liquido, esaminato a fresco, si mostrava costituito quasi esclusivamente di leucociti di varia natura con grande prevalenza dei polimorfi, e di goccioline di grasso; nessun microrganismo fu potuto riscontrare in esso nonostante le ripetute colorazioni con i comuni colori di anilina.

Più importante era però l'esame dei granuli gialli, che, isolati e lavati in modo da togliere loro il pus che li attorniava, diventavano di un colorito biancastro, perchè il pus in cui erano immersi non li imbeveva. Erano di forma rotonda, ovoide o reniforme, insolubili nella potassa, nell'acido acetico, nel cloroformio, nell'alcool, di consistenza molle, pastosa, come piccoli pezzetti di sapone morbido, e quindi facilmente schiacciabili tra un porta ed un coprioggetti.

Esaminandoli così schiacciati si vedeva che essi erano formati da tanti ammassi rotondi d'apparenza finamente granulosa, trasparenti, sparsi qua e là, in mezzo a cui si trovavano abbondanti leucociti e dei cristalli di grasso. La sostanza granulosa era in qualche punto più abbondante, in qualche punto più scarsa; dove era più abbondante appariva raggruppata a forma come di un ciuffo, e si vedeva che da questo ciuffo partiva dell'altra sostanza che si dirigeva perifericamente e che aveva una disposizione come raggiata. Se fra il copri e porta-oggetti facevo passare una leggiera soluzione colorante (violetto di genziana molto allungato), allora vedevo che questa sostanza, la quale scolorata

appariva come finamente granulosa, era invece formata da un intreccio intricatissimo di sottili filamenti aggruppati strettamente fra di loro. Capitando in un punto in cui l'intreccio era meno compatto, si vedeva che questi filamenti si ramificavano dicotomicamente. Insomma questi granuli caratteristici non erano che un ammasso di filamenti intrecciati, fra le cui maglie si trovavano dei leucociti e del grasso, e questi filamenti appartenevano con tutta probabilità al microrganismo conosciuto sotto il nome di *Streptothrix Madurae.*

Dati tutti questi caratteri veniva quasi pienamente confermata la diagnosi di Micetoma fatta dal chirurgo, e più specialmente della varietà gialla di esso. La malattia non era ancora giunta ad uno stadio molto avanzato, giacchè non aveva ancora prodotto le alterazioni caratteristiche che si riscontrano quando la malattia è molto progredita cambiamento di forma della parte, rammollimento, deviazione ecc.), pur nonostante aveva avuto uno sviluppo relativamente rapido, perchè in poco tempo aveva già interessato gli strati più profondi del piede. Per la piena conferma della diagnosi mancavano i resultati dell'esame batteriologico, di cui verrà detto più tardi.

Avendo allora intenzione di limitare il mio studio alle semplici ricerche batteriologiche, non mi occupai di fare l'esame istologico dei tessuti alterati. Avendo però il dott. *Field* gentilmente messa a mia disposizione una metà del piede amputato, volli mandarlo al prof. *Lustig* perchè lo tenesse come curiosità anatomo-patologica, e lo trattai perciò col metodo del *Melnikow* che serve bene per la conservazione dei pezzi da museo, introducendovi però una piccola modificazione suggeritami dal prof. *Berestneff* dell'Università di Mosca, che in quel tempo lavorava in Bombay nel laboratorio municipale da me diretto. Questa modificazione è stata introdotta, e con successo, per conservare i pezzi che figurano nel museo di Anatomia patologica delle malattie infettive, annesso al laboratorio di batteriologia e sieroterapia dell'Università di Mosca.

Il trattamento fatto subire al pezzo del piede disarticolato fu il seguente:

Per un giorno fu tenuto in questa soluzione:

Acqua	gr.	1000
Formalina (40 %)...	»	200
Acetato di potassa ..	»	30
Nitrato di potassa ..	»	15

Quindi per un altro giorno in alcool a 80°, ed infine messo e conservato (e così spedito in Europa in un recipiente ben saldato) in qu soluzione:

Acqua.....	gr.	1000
Glicerina.....	»	200
Acetato di potassa	»	100

Resultati dell' esame batteriologico. — Come ho già detto, le culture furon fatte trasportando nel brodo e nell'Agar comuni i granuli gialli presi dalla parte più centrale del piede sezionato, le culture furon tenute alla temperatura dell' ambiente oscillante fra i 27 ed i 33 gradi. Alcuni tubi di queste stesse culture, ermeticamente sigillati, furon contemporaneamente spediti a Firenze al prof. *Lustig.*

Nelle mie culture dopo 7 od 8 giorni non vi era nessun segno di sviluppo, i mezzi di cultura apparivano sterili, il che confermava il resultato dell' esame a fresco che nel liquido purulento non erano presenti altri microrganismi. Non avendo osservato alcuno sviluppo nemmeno al 15° giorno, preparai insieme al dott. *Mayr* del laboratorio di Bombay del terreno di cultura in cui al brodo si sostituiva l'infuso di fieno al 15 °/₀ come raccomanda il *Vincent*, e sull'Agar così preparato il dott. *Mayr* trasportò uno dei granuli, che apparentemente erano rimasti stazionarii dopo tenuti 16 giorni nell'Agar comune. Nel trasportare il granulo fu notato che esso era fortemente aderente al terreno di cultura, tantochè anche un piccolo frammento di agar dovè essere trasportato nell' altro tubo.

Verso il 22° giorno però si cominciarono a notare nel tubo di agar comune, in vicinanza del materiale innestato, dei piccoli punti bianchi, delle colonie che crebbero rapidamente in due o tre giorni, tanto che già in così breve spazio di tempo le colonie erano molto rilevate sulla superficie dell'agar. Esse si presentavano di un colorito bianco giallastro, ed avevano la forma di una piccola calotta di sfera, confluivano intorno al punto primitivo crescendo le une sulle altre, cosicchè in capo a 7 od 8 giorni queste colonie formarono come un grappoletto ben rilevato sulla superficie dell' agar. Dopo qualche tempo colonie simili cominciarono a svilupparsi anche in punti lontani dal primitivo punto d' innesto. Caratteristica di queste colonie era quella di essere enacemente aderenti al mezzo nutritivo, tantochè, per farne dei trapianti, non si potevano asportare con l' ansa senza rompere l' agar. In brodo lo sviluppo si comportò similmente per

riguardo al tempo impiegato a comparire; anche qui i primi fiocchetti di forma rotonda appiattita, simili ad una piccolissima lenticchia, di colore bianco-grigiastro cominciarono ad apparire solo dopo ventun giorni, ed una volta appariti, lo sviluppo successivo fu rapidissimo. Alcuni restarono alla superficie riuniti a due o tre da una sottile pellicola che si stendeva su quasi tutta la superficie libera del brodo, altri rimasero attaccati alla parete, altri calarono a fondo, senza che per questo il brodo ne restasse intorbidato. Nelle culture fatte dal dott. *Mayr* sui terreni preparati con l'infuso di fieno, non si riscontrarono differenze notevoli nè per l'abbondanza dello sviluppo, nè per i caratteri delle colonie, soltanto lo sviluppo fu un poco più rapido giacchè cominciò verso il 15° giorno.

Pure identico per le varie colonie fu il reperto microscopico; esse si presentavano in tutti e due i casi formate da filamenti sottili, ramificantisi, ben colorabili con i comuni metodi, specialmente col liquido di *Ziehl* e col *Gram*. Nelle colonie giovani i filamenti rimanevano ben coloriti in tutta la loro lunghezza senza presentare delle discontinuità. La disposizione dei filamenti ed il loro modo di aggruppamento non era regolare, in alcuni punti essi eran piuttosto rari, in altri ammassati a piccoli ciuffetti i quali formavano come il centro di altri filamenti che di lì si partivano prendendo verso la periferia una disposizione raggiata. Anche qui si aveva insomma la riproduzione presso a poco di quanto era stato osservato nell'esame microscopico del materiale preso direttamente dal piede, ed una di queste colonie era la copia di uno dei granuli giallastri che riempivano le cavità che sopra sono state descritte. Se dovessi riassumere le caratteristiche principali del modo di svilupparsi di queste culture, direi che esse hanno uno sviluppo molto tardivo, ma che procede molto rapidamente una volta iniziato, che le colonie a forma di calotta sferica sono aderenti in modo straordinar- al mezzo solido di cultura, e che crescono aggruppate e s vrapposte l'una all'altra come un grappolo d'uva. Non fe inoculazioni sugli animali, in parte perchè me ne mancò l'op

portunità, in parte perchè non credei molto utile l'insistere in questa ricerca, che a tutti aveva dato resultati negativi, compreso il dott. *Surveyor* (uno specialista dell'argomento) che trovavasi allora a Bombay e che ebbi l'opportunità di consultare in proposito.

Questi resultati mi parvero sufficienti, uniti a tutti gli altri dati raccolti, per sicuramente affermare che il microrganismo sviluppatosi in cultura pura tanto nei comuni terreni, come in quelli preparati con infuso di fieno, era la *Streptothrix Madurae* descritta da *Vincent*, e da ciò una conferma che il caso da me osservato era realmente un caso di Micetoma.

Come ho detto sopra, una di queste culture (fatta in agar con infuso di fieno) fu anche mandata al prof. *Lustig* a Firenze, il quale fece studiare questo microrganismo nel suo laboratorio, dove un tale studio si poteva fare in condizioni più favorevoli che nel laboratorio di Bombay. Riporto qui i resultati di tale studio, gentilmente favoritimi dall'assistente dott. *Rossi*, il quale appunto fu dal prof. *Lustig* incaricato di tali ricerche; egli però per ragioni indipendenti dalla sua volontà non potè completare le ricerche. Trascrivo qui gli appunti del dott. *Rossi* come son rilevati dal suo libro di note:

15 maggio. — Furon fatti trapianti in agar e gelatina dalla cultura inviataci dall'India, strisciando prima l'ago sulla cultura madre poi sul terreno. Nessun resultato dalle culture così fatte nonostante che fossero state conservate per tutta l'estate.

20 maggio. — Trapianto dalla cultura madre in agar e gelatina comuni fatto trasportando alcune di quelle colonie caratteristiche a forma di granulo. Resultato negativo come nella prima prova.

2 giugno. — Dietro consiglio del professore preparo terreni, agar e gelatina, con infuso di fieno.

5 giugno. — Fatti numerosi trapianti in agar e gelatina:

1° Strisciando prima l'ago sulla cultura madre poi sui terreni. (Nessun risultato).

2° Trapiantando interamente alcuni granellini.

3° Stemperando qualche granellino in poche gocce di brodo e versando poi questo sopra il terreno, oppure strisciando sull'agar l'ago bagnato di brodo.

Alcune culture furon tenute nel termostato a 37°, altre lasciate alla temperatura del laboratorio.

Nei tubi in agar dove erano state trapiantate interamente le colonie, dopo circa 20 giorni si cominciò a vedere una piccolissima rilevatezza trasparente, che dava l'idea come se l'agar, nello strisciarvi so-

pra l'ago si fosse scalfitto e sollevato, e soltanto dopo altri 20 giorni si poterono chiaramente distinguere delle colonie in via di formazione, colonie piccole come un capo di spillo. Appena giunto lo sviluppo a questo punto, esso andò rapidamente progredendo ed in una diecina di giorni quasi tutta la superficie dell'agar era ricoperta di queste colonie trasparenti, più grosse nel punto in cui era cominciato lo sviluppo, più piccole alla periferia.

Oltre che essere più grandi, le colonie nella parte centrale erano molto vicine, in alcuni punti addossate, mentre alla periferia distavano l'una dall'altra di 2 o 3 millimetri.

Queste colonie man mano che andavano invecchiando perdevano la loro trasparenza per diventare opache, e volendole staccare con l'ago vi si riesciva con difficoltà per la loro aderenza al terreno; infatti quando le staccavo dovevo portar via anche dei pezzetti di agar. Oltrechè aderenti al mezzo, erano piuttosto dure, ed era ben difficile lo schiacciarle per disfarle nel brodo.

Nessun risultato nelle culture fatte nel latte, e sul siero di sangue. Da una cultura in agar completamente disseccata, trapiantata dopo 45 giorni, si ottenne una nuova cultura con abbondante sviluppo. In un tubo di gelatina in cui si era avuto l'attecchimento del germe e produzione di colonie non si verificò la fluidificazione del mezzo nutritivo.

Le osservazioni microscopiche fatte sulle culture dal dott. *Rossi* collimano con le mie; è quindi inutile che le ripeta.

Posso qui aggiungere che essendo state queste culture messe da parte e non più curate, io l'ho trovate al mio ritorno dall'India, dopo più di 18 mesi, completamente disseccate, e quantunque abbia tentato tutti i mezzi possibili non son riuscito ad ottenere nuove culture. Non sono perciò in grado di confermare a tal riguardo i resultati di *Vincent* (3), il quale ha trovato che una cultura lasciata a sè conservava dopo 31 mesi la sua vitalità.

Ricerche istologiche. — Come ho già detto sopra, non potei occuparmi in Bombay di tali ricerche, ma tornato in Italia volli completare lo studio di questo caso anche studiando le alterazioni istologiche prodotte dal fungo, e servendomi perciò di una parte del piede conservato nel liquido di *Melnikow*, che avevo mandato al Laboratorio di Patologia generale di Firenze. Come si è detto, il liquido di *Melnikow* specialmente usato per conservare i pezzi anatomici p

museo, perchè ha il vantaggio di essere meno costoso dell'alcool, e se i pezzi son presi freschi, di non alterarne il colorito, però è oltre a ciò un buon fissatore, come è stato riconosciuto anche dal *Monti* (9) il quale afferma che esso può servire anche per le ricerche le più delicate, qualora il pezzo sia stato messo fresco nel liquido e non sia troppo grosso. Nel mio caso non erano trascorse più di due ore da quando il piede fu disarticolato a quando fu messo nel liquido fissatore, e la sezione tagliata dal piede aveva uno spessore di appena 2 cm., e del resto per le mie osservazioni mi sono servito solo di pezzetti tolti dalle parti più superficiali in cui il fissatore era certo ben penetrato. I pezzetti furon passati per le serie degli alcools per indurirli, poi in xilolo ed in paraffina. Avendo scelto i pezzetti di tessuto in cui erano le cavità contenenti i granuli caratteristici, ho trovato difficile fare delle sezioni complete, perchè essendo il granulo contenente il fungo di consistenza diversa dal tessuto, facilmente o questo si stacca dalla sezione, o la lama vi passa sopra senza tagliarlo. Occorre quindi moltissima cura nel fare l'inclusione e nel sezionare.

Metodi di colorazione. — Il metodo di colorazione che meglio mi ha corrisposto è stato quello con ematossilina ed eosina, il quale oltre a colorire bene i filamenti del parassita, mette bene in evidenza le alterazioni del tessuto circostante; bisogna però colorire piuttosto leggermente altrimenti l'ematossilina colorisce troppo intensamente i filamenti i quali, essendo così ammassati ed intrecciati fra loro, si vedono poco distintamente l'uno dall'altro anche con forte ingrandimento. Per osservare, e studiare distintamente i filamenti serve forse meglio il metodo di *Gram*, od una modificazione di esso, che dà una colorazione molto più delicata e netta, tale da mettere meglio in evidenza le particolarità del microrganismo. Il metodo di *Gram* modificato, di cui mi sono a preferenza servito, è quello di *Lloyd Jones*, descritto da *Kanthack* (7). Per colorire con questo metodo si procede così. Dopo tolta la paraffina dalle sezioni per mezzo dello xilolo, si mette il portaoggetti nell'olio di anilina finchè le sezioni non son diventate

perfettamente trasparenti. Si toglie l'olio prima con la carta suga e quindi per mezzo del lavaggio in acqua corrente, e si colora per un periodo che varia da $^1/_2$ ora a 24 ore col liquido di *Weigert-Erlich*, si passa poi nel liquido di *Lugol*, si asciuga con carta suga senza lavare, e si passa poi per 2 o 3 secondi in una soluzione alcoolica molto diluita di eosina. Si lava in acqua, si asciuga bene e si mette di nuovo nell'olio di anilina finchè le sezioni non hanno perduto il colore violetto; si passa poi in xilolo e si monta in balsamo. L'unica modificazione che ho trovato conveniente di apportare al metodo è di tenere il vetrino per 4 o 5 minuti soltanto nella soluzione di violetto di genziána; si hanno così resultati migliori. Con questo metodo la parte centrale della massa del microrganismo si colora in un bel turchino, mentre la parte raggiata più esterna si colora in rosa pallido (fig. 2). Il tessuto circostante si colora male e quindi questo metodo non serve che per studiare le particolarità del microrganismo.

Il metodo consigliato da *Bostroem* (10) per l'actinomicosi e che non differisce molto da quello di *Lloyd Jones* (si sostituisce all'eosina il litiocarminio, con cui il preparato vien colorito per un'ora circa, prima di esser portato nel violetto di genziana) non mi ha dato buoni resultati, il che era da prevedersi avuto riguardo al modo con cui il pezzo era fissato. Perchè, come anche il *Monti* fa notare nel suo lavoro sopra citato, i carmini ammoniacali, e quelli picrici, non servono bene, perchè facilmente precipitano in contatto con le sezioni, forse per effetto dell'acetato di K non tolto completamente. Ho voluto provare a fare delle colorazioni semplici con carminio boracico, ma anche dopo tenuti i vetrini 24 ore nel colore, essi rimanevano appena coloriti, e bastava un semplice lavaggio in acqua per scolorirli completamente.

Quando il preparato è pronto, si può anche ad occhio nudo, guardando attraverso la sezione, vedere la massa rotondeggiante formata dal fungo separata da uno spazio chiar circolare, dal restante del tessuto, ed in mezzo a cui spiccar uno o più punti intensamente coloriti in violetto.

Microscopicamente a piccolo ingrandimento, nei prepara

coloriti con ematossilina ed eosina, due parti colpiscono subito come differenti e ben distinte fra loro. 1° Una massa regolarmente od irregolarmente rotondeggiante separata da uno spazio chiaro (fig. 1 *a*) su cui spiccano due parti ben distinte, una centrale tinta in bleu, in qualche punto così intensamente da assumere un colore bleu nerastro vellutato e che è formata da figure circonvolute, molte delle quali a semiluna, variamente aggruppantisi fra loro, in qualche punto da dare come l'aspetto di una corona gentilizia, ed una zona periferica colorita in rosa dall'eosina. Questa zona è formata come da tanti raggi più o meno distinti, più o meno regolari, posti uno accanto all'altro, alla parte più esterna dei quali si vedono dei leucociti coloriti in bleu dall'ematossilina. 2° La seconda parte è formata dal tessuto circostante (fig. 1 *b*) che ha tutti i caratteri del tessuto infiammatorio di neoformazione, con abbondante infiltrazione leucocitaria, elementi connettivali giovani e tessuto connettivo, vasi di neoformazione, emorragie disseminate qua e là, e notevoli alterazioni di cui verrà parlato più sotto.

Passiamo ora ad esaminare più minutamente ed a studiare queste diverse parti.

La parte prima, quella massa rotondeggiante, non rappresenta che una sezione di uno dei noduletti gialli, caratteristici della malattia che è oggetto del nostro studio, è quindi formata dal microrganismo. Se ne comprende perciò la forma rotondeggiante, e si spiega anche l'esistenza di quello spazio chiaro che la limita dal restante del tessuto, perchè sappiamo che questo noduletto è rannicchiato in quella specie di capsula, ma libero dentro di essa, e si trova come immerso in un liquido giallo purulento, il quale sparisce con la fissazione e l'indurimento; anzi essendo i due tessuti di densità differente, per l'azione dell'alcool, questo spazio appare anche maggiore di quello che non sia realmente.

Questa parte ho detto che è costituita da due zone, una colorita intensamente in bleu e più centrale, l'altra colorita in rosa e periferica. La zona centrale, come si vede chiaramente con un forte ingrandimento, è formata dall'intreccio

dei filamenti del microrganismo, che si sono avidamente coloriti con l'ematossilina. L'aggruppamento di questi filamenti ha sempre una forma costante rotondeggiante, in generale a semiluna, cioè con due estremità della circonferenza che non si toccano; solo raramente si ha una circonferenza perfetta. L'accrescimento si fa dall'esterno verso l'interno, dalla parte convessa alla concava, di modo che i filamenti che si trovano più esternamente in prossimità dell'altra zona color rosa sono i più vecchi, ed i più giovani sono quelli che formano la parte concava della semiluna. I filamenti sono in generale più radi nella parte più esterna e nella parte più interna, più fitti e maggiormente intrecciati nella parte mediana, ed è appunto in corrispondenza di questa parte che talvolta con la colorazione la massa assume un colorito bleu nerastro con riflessi vellutati. Dentro la parte concava, nello spazio chiaro da essa delimitato, si vedono talvolta dei granuli amorfi, del detrito colorito in rosa; dalla parte conversa si vede prendere origine la zona raggiata (fig. 2).

Esaminando con un più forte ingrandimento nei punti dove l'intreccio è meno fitto, e specialmente nei preparati coloriti col metodo di *Lloyd Jones*, si posson ben distinguere i singoli filamenti (fig. 2). Questi filamenti sono molto fini, misurando 1–1 ½ μ di spessore, hanno in generale un decorso ondulato ed a spirale, pochi son quelli che decorrono dritti. Durante il loro percorso si dividono, o meglio danno delle ramificazioni, che spesso si dipartono ad angolo retto e ad angolo non molto acuto, che poi si suddividono a lora volta intrecciandosi con ramificazione di altri filamenti vicini. Nei preparati coloriti con ematossilina questi filamenti son coloriti intensamente ed uniformemente, ma se la colorazione è stata fatta adoperando il violetto di genziana, i filamenti non appaiono più coloriti in modo uniforme, ci sono dei punti rimasti scoloriti o quasi, e dei punti dove il colore pare come addensato. Non vi è uniformità in questo aspetto; talvolta tratti coloriti son lunghi e le interruzioni son piccole, tal volta invece occorre il contrario, solo in qualche caso vi una certa regolarità ed allora il filamento prende l'aspett

come di una catena di streptococco. Questo nei filamenti del microrganismo che si è sviluppato nei tessuti, ma nei preparati fatti prendendo il materiale dalle culture e similmente coloriti con violetto di genziana o con fuxina, non si aveva per niente questo aspetto ed il filamento rimaneva colorito in tutta la sua continuità. Per queste ragioni è da ritenersi che tale aspetto sia dovuto soltanto ad irregolarità nella fissazione del colore, che è più marcata nelle forme vecchie che si trovano nei tessuti, per fatti degenerativi avvenuti nel protoplasma del microrganismo, senza che si possa sospettare con qualche fondamento che si tratti di spore. Del resto nelle culture vecchie di svariati microrganismi a lunghi filamenti si osserva lo stesso fatto. In alcuni punti si vedono poi degli ingrossamenti rotondi, come bottoncini, più intensamente coloriti, che potrebbero pure simulare delle spore; io li ho notati più frequentemente nei punti dove i filamenti s'intersecavano, o dove prendeva origine una diramazione, e siccome queste forme io non le ho potute riscontrare, nè altri le hanno riscontrate nelle culture giovani, è da credersi che non si possa dar loro il significato di spore, e che anche queste sian dovute al processo d'involuzione del parassita. Perchè non bisogna mai perder di vista il fatto che il microrganismo che si trova a formare questi noduli è là di già sviluppato da lungo tempo, ed è in coutinua via d'involuzione come vedremo ora quando ci occuperemo della seconda zona che forma questo ammasso del fungo, la zona che apparisce di un color rosa.

Questa zona più periferica (fig. 2 *b*) che si colora e non intensamente con l'eosina ha pure un aspetto caratteristico; è stata rassomigliata ad una specie di manto che avvolga l'altra parte ora descritta. È formata di una sostanza che ha, a prima vista, l'aspetto di sostanza ialina, che si riunisce però in fasci ben differenziati, quantunque siano aderenti l'uno all'altro. Questi fasci sono talora molto lunghi fino 130-150 μ., talora corti 20–30 μ., hanno forma variata, talora come una lunga clava, talora a forma di cuneo, talora strozzati nel mezzo quasi da ricordare l'aspetto di un osso femorale. Quello che c'è però di comune in tutti è che verso la parte più in-

terna, più vicina al micelio centrale, che potremo chiamare la parte da dove prendono inserzione, sono più stretti, e vanno allargandosi man mano che procedono verso la periferia. Si notano talvolta delle interruzioni nella loro continuità, apparendo come spezzati, talvolta invece d'essere gli uni aderenti agli altri lateralmente, sono come staccati, la loro inserzione non è sempre regolare, taluni cominciano più indentro taluni più infuori. Se si osserva bene si può in qualche caso notare che un filamento del microrganismo, ben colorito in violetto (metodo *Lloyd Jones*) s'insinua per un certo tratto, e talvolta per l'intera lunghezza dentro il raggio stesso (fig. 2 ç). In molti casi con un forte ingrandimento si vede bene che questi raggi hanno una fine striatura longitudinale, mentre manca qualunque accenno ad una striatura trasversale. In qualche caso tutta questa zona raggiata è nettamente divisa, come staccata o meglio strappata dal centro della massa miceliare, talvolta è tutta alterata, i raggi sono spezzettati, frammentati, ne rimangono solo dei pezzetti qua e là in mezzo a del detrito. Nella parte più esterna quasi sempre si trovano dei leucociti, sparsi qua e là, ma di regola non in numero abbondante, abbondantissimi sono invece dove questa zona finisce, fra questa e lo spazio chiaro che la separa dal tessuto, anzi talvolta, come nell'esemplare raffigurato dalla fig. 1, c'è ancora in qualche punto una netta delimitazione fra la zona raggiata e l'altra parte formata quasi esclusivamente da cellule di pus.

Descritta così la zona raggiata, veniamo a considerare che cosa essa sia e che cosa rappresenti.

È evidente che essa, quantunque abbia una così diversa reazione al colore, è intimamente connessa alla parte centrale, e forma anch'essa parte del microrganismo. Se avessi avuto a mia disposizione vari pezzi anatomici presi a diversi periodi del decorso di questa malattia, o se pure fosse possibile riprodurre il micetoma, sperimentalmente avrei potuto mostrare co comincia e come successivamente si sviluppa questo conglom rato, questo granulo, da quando il microrganismo invade tessuto fino al punto che sviluppandosi là, come si svilu

perebbe in un mezzo artificiale, produce quel noduletto che si può ritenere molto simile ad una colonia sviluppatasi in un mezzo solido. Simile soltanto però, perchè nelle colonie cresciute nei mezzi artificiali non si ha la produzione della zona raggiata che si osserva solo nei tessuti. Mancandoci però i mezzi di fare queste osservazioni e considerata la somiglianza che vi è tra l'agente specifico del micetoma e l'actinomices tanto morfologicamente come per il modo di svilupparsi e per le alterazioni prodotte nei tessuti, è lecito supporre che questa zona si origini presso a poco similmente come si origina quella, che le è molto simigliante, nell'actinomicosi.

Nel primo periodo dello sviluppo non si ha che l'ammasso del microrganismo formato da filamenti i quali, come abbiamo già detto, nella parte più periferica hanno una disposizione raggiata. Man mano che il microrganismo cresce in direzione della porzione concava formata dall'ammasso semicircolare dei filamenti, avvengono dei fatti degenerativi i quali cominciano a manifestarsi nei filamenti più vecchi, in quelli che si trovano più alla periferia, verso la parte convessa e che sono disposti a raggi. L'estremità del filuzzo poi rigonfia (*Bostrôm* crede per degenerazione mucosa della guaina del microrganismo) e questo rigonfiamento può interessare una parte più o meno lunga del filuzzo stesso, quindi questa parte degenerata cade, si stacca dal filuzzo come se ne fosse troncata, ed il resto del filuzzo pure degenera e poi muore. In seguito si ha una trasformazione della sostanza mucosa della parte caduta, la quale sostanza si fa più dura e più trasparente. Verificandosi questi fatti degenerativi in tutti i filamenti, si comprende facilmente come ne possa risultare la formazione di queste masse di sostanza amorfa, degenerata, che non si colorano più con i colori d'anilina, che presentano l'aspetto di tante lunghe clave o bastoni disposti in senso raggiato come le stecche di un ventaglio convergenti verso il centro dell'ammasso del microrganismo, dove restano tutt'ora integri e si riproducono altri filamenti. Parimente si comprende facilmente come questi raggi presentino ancora l'accenno ad una striatura in senso longitudinale, composti come sono, dai resti di filamenti che

avevano appunto questa direzione longitudinale, e come talvolta possa avvenire che qualche filamento rimasto intatto e conservante tutt' ora i suoi caratteri di colorabilità, possa vedersi in mezzo alla sostanza degenerata (fig. 2 *c*).

Qual' è la forma di degenerazione che si presenta in questi filamenti?

Se si deve stare unicamente all'aspetto di questa sostanza ed al modo con cui essa ha reagito alla colorazione con l'eosina nel caso da me studiato, io propenderei a credere che si trattasse di degenerazione ialina piuttosto che di degenerazione muccosa. Ma, dato il concetto che oggi tende a prevalere che non si possa più fare una classificazione così netta e distinta delle diverse degenerazioni, ma che in molti casi una forma degenerativa non sia che il passaggio, o la successiva trasformazione di un'altra forma di degenerazione, ed avuto riguardo al tempo lungo in cui tutto il processo patologico si svolge nel micetoma, si può ammettere che a seconda dei varii periodi più o meno avanzati della malattia a cui appartiene il pezzo esaminato, si possano avere forme degenerative diverse. Così *Bostroem* (10) parla di degenerazione muccosa, *Unna* (11) di degenerazione colloide e *Kanthack* (7) di degenerazione ialina. Se questa degenerazione avvenga per effetto dell'invasione dei leucociti alla periferia della massa del fungo, o per processi regressivi inerenti al protoplasma del microrganismo, o per effetto di veleni secreti dal tessuto invaso che così reagisce all' infezione, è cosa tutt' ora da decidersi. Certo si è che nelle culture artificiali al di fuori dei tessuti viventi non si osserva mai questa zona di sostanza degenerata, e che i leucociti quasi sempre si vedono soltanto alla periferia, nella parte più vecchia di essa; si potrebbe quindi pensare con fondamento di probabilità, che i filamenti degenerino per azione di sostanze tossiche prodotte dai tessuti del piede invaso dal Micetoma.

Non sarà inutile l'aggiungere che nel mio caso non ho osservato formazioni di pigmento intorno alla massa del micror ganismo; questo pigmento si osserva in generale in un periodo più avanzato della malattia.

Alterazioni nei tessuti. — Resta ora a parlare delle altera-

zioni del tessuto circostante, di quel tessuto che abbiamo detto avere tutti i caratteri del tessuto infiammatorio. Vi si riscontrano infatti una abbondante ed estesa infiltrazione leucocitaria, elementi rotondi ed affusati (fibroblasti), tessuto connettivo neoformato pure in grande abbondanza, cellule giganti, numerosissimi vasi di neoformazione, globuli rossi estravasati e delle cellule, in massima parte alterate, sparse qua e là a gruppi, irregolarmente, e che per i loro caratteri si avvicinano a quelle cellule d'interpetrazione tutt'ora dubbia, e che son conosciute sotto il nome di plasmacellule o cellule plasmatiche.

Per amor di chiarezza credo più opportuno il descrivere separatamente i diversi elementi.

Leucociti. — Varii di forma e variamente aggruppati nelle diverse parti del tessuto, più abbondanti nelle parti via via più vicine all'ammasso della *Streptothrix.* Prevalgono quelli a nucleo irregolare, o polinucleati, alcuni con nucleo doppio ad occhiale, i più con nucleo trilobare a forma di trifoglio: non sono in generale molto grossi (6–7 μ) ed anche il loro nucleo è piuttosto piccolo. In massima parte son ben conservati, alcuni però son caduti in necrosi e presentano detriti da cromatolisi. Aggiungo qui che anche dove più abbondante è l'infiltrazione leucocitaria non si vedono microrganismi piogeni, il che conferma il reperto culturale.

Tessuto connettivo. — È abbondantissimo, in alcuni punti rimpiazza da solo il tessuto primitivo distrutto, si dirama in svariatissime direzioni, delimitando talvolta delle isole in cui si trovano altri elementi e specialmente ammassi di plasmacellule degenerate. Si posson vedere tutti i gradi di passaggio dal tessuto connettivo fibrillare lasso, tenue da poco formato, fino al tessuto denso fibroso. In altri punti il tessuto fibroso appare alterato, le fibre non son più così densamente e fittamente unite fra loro, ma appaiono come rigonfie ed in via di separarsi l'una dall'altra, il che probabilmente è dovuto ad un processo d'imbibizione a cui anche questo tessuto fibroso va soggetto. In mezzo a questo tessuto si osservano sparsi qua e là dei leucociti ma in scarso numero, cellule connetti-

vali di varia forma e natura, e cellule plasmatiche rigonfie, che hanno preso un aspetto allungato.

Cellule giganti. — Sono disseminate irregolarmente; in alcuni preparati si vedono abbondanti, in altri sono scarse o mancanti. Nella porzione più vicina alla massa del microrganismo sono più numerose, però in alcuni punti anche molto distanti si trovano delle aree di tessuto in cui queste cellule sono in numero rilevante e molto vicine le une alle altre. Esse son provviste di un protoplasma granuloso a zolle piuttosto grosse, con 7–8 e più nuclei rotondi, dentro cui si possono distinguere due o tre nucleoli (fig. 3); ve ne sono di varia grandezza fino a 45 e 50 e più μ. Non si nota che intorno ad esse l'infiltrazione leucocitaria sia più abbondante. Se per le cellule che si trovano nella parte più vicina al microrganismo, il quale racchiuso nel nodulo forma come un corpo estraneo, si può ben comprendere per analogia con altri fatti simili perchè si formino queste cellule giganti, bisogna ammettere che per quelle che si formano in altre parti, il microrganismo eserciti la sua azione a distanza probabilmente per mezzo dei suoi prodotti tossici.

Vasi sanguigni. — I vasi sanguigni preesistenti, cioè quelli non di neoformazione, sono ingrossati, cosa già notata da *Lewis* e *Cunningham* (12) e da *Vincent* (13). Secondo i primi si avrebbe una proliferazione dell'endotelio dell'arterie, una specie di arterite obliterante, secondo *Vincent* l'ingrossamento è dovuto ad un ispessimento dell'avventizia. Io ho notato che spesso tutte e due le alterazioni sussistono insieme, tantochè lo spessore di certi vasi è enormemente aumentato; ma quasi in tutti i casi i nuclei dell'intima sono ingrossati. I vasi sanguigni di neoformazione sono numerosissimi, più numerosi di quello che usualmente si osservi in tessuti consimili, con una parete sottile in cui si notano però dei grossi nuclei. Talvolta la loro parete è intatta, talvolta è rotta, ed è così che si spiegano i numerosi accumuli di emazie estravasa che in qualche punto formano come il fondo di tutto il t suto. È stato già detto che se si fa una incisione in un pie affetto da micetoma si ha una emorragia imponente, il c

appunto si spiega con questa abbondanza di vasi di neoformazione.

Plasmacellule. — Colorando un preparato col bleu policromo di *Unna* e decolorandolo poi con la miscela di glicerina ed etere, si vedono sparsi qua e là abbondantemente degli ammassi di cellule generalmente con nucleo eccentrico ed a forma che rammenta la stellata, che senza dubbio rispondono in parte alla colorazione caratteristica, però il metodo non mi è riescito troppo bene forse a causa del liquido speciale adoperato per la fissazione. Ma anche la colorazione con l'ematossilina ed eosina serve egualmente bene per mettere in evidenza queste cellule che nei miei preparati appariscono quasi tutte alterate.

Anche queste cellule sono disseminate qua e là a gruppi, in molti casi si ha come un isolotto rotondeggiante circondato da tessuto connettivo e contenente nell'interno queste cellule, nel cui centro si trova quasi sempre un vaso capillare (fig. 4). Ve ne sono di varia specie: una specie, come quelle disegnate nella fig. 4, molto ingrandite, come idropiche, misuranti fino a 30-35 μ con nucleo unico, eccentrico, non molto alterato, soltanto un po' raggrinzato, ma che si colora sempre bene con l'ematossilina. Il loro protoplasma è quasi completamente scolorato, solamente il reticolo appare evidente, e fra le larghe maglie di questo reticolo si vedono dei vacuoli bianchi; il colorito generale è di un violetto tendente un po' al rosa, il che fa supporre che queste cellule così rigonfiate non abbiano completamente perduta la loro basofilia. Queste cellule sono in generale rotonde. Ve ne sono poi altre di queste plasmacellule più piccole, il cui protoplasma si colora in rosa e che paiono in degenerazione ialina, però nei miei preparati queste sono molto scarse, e non sono molto sicuro sulla loro interpetrazione. Vi sono poi, ed anche queste non in numero abbondante, delle plasmacellule tipiche, normali, ben conservate con il nucleo caratteristico, e che si trovano di preferenza vicine ai capillari sanguigni, ma anche sparse nel tessuto. Osservando minutamente e pazientemente si possono ritrovare anche delle forme di passaggio fra queste cellule allo

stato normale e quelle così ingrandite della prima specie. In mezzo ai fasci del tessuto connettivo, si vedono, come ho già accennato, di queste plasmacellule un po' idropiche, ma non così come le altre, che hanno preso una forma allungata e che stanno come annidate fra un fascio e l'altro con il loro asse più lungo nella direzione stessa delle fibre.

Unna (11) dà grande importanza alla presenza di queste cellule nel Micetoma, anzi considera quasi come specifico di questa malattia l'abbondante numero di esse e la loro tendenza alla colliquazione ed alla degenerazione ialina. Nell'actinomicosi, ed in altre di quelle forme che producono i cosidetti granulomi infettivi si riscontrano facilmente queste plasmacellule che sono più abbondanti, più il processo è cronico; però è fuori dubbio che nel Micetoma esse sono in numero rilevantissimo. Io non posso condividere completamente l'opinione di *Unna* riguardo al processo di colliquazione a cui queste cellule anderebbero incontro; quelle cellule così rigonfiate che abbondano nei preparati da me osservati, sono idropiche, ripiene di liquido, rigonfie senza dubbio, ma il loro nucleo è ben conservato e non danno l'impressione di essere in preda ad un processo degenerativo. In un tessuto così irrorato da vasi, dove l'essudazione è così abbondante queste cellule sono imbevute, come imbevuto è il tessuto connettivo. Si potrà poi in seguito per effetto di questa imbibizione avere la morte della cellula ed il successivo disfacimento di essa, ma, almeno per quanto ho potuto vedere io, non credo si possa parlare di un vero e proprio processo di colliquazione.

Non è mio intendimento affrontare qui la questione tanto dibattuta, e finora rimasta insoluta dell'origine di queste plasmacellule, e del loro ufficio. Il *Foà* (13) si è ultimamente occupato di questo argomento in un pregevolissimo lavoro, ed è venuto alla conclusione che esse provengono dal tessuto connettivo.

Il metodo di fissazione dei miei preparati non mi ha permesso di fare delle osservazioni accurate, nè era mia intenzione d'occuparmi di questo speciale argomento.

Cute.— Nel caso da me descritto, le alterazioni della cute non

erano molto rilevanti perchè il processo si era piuttosto esteso profondamente. Si nota soltanto un sollevamento dell'epidermide, ed in qualche punto tanto lo strato corneo come lo strato granuloso sono assottigliati. Nello strato spinoso vi è dilatazione degli spazi fra cellula e cellula, probabilmente a causa dell'edema. I fasci connettivali del derma sembrano in degenerazione ialina e vi è in questa parte una limitata infiltrazione di leucociti. Naturalmente in questo caso, — la malata era di razza colorata — il pigmento è molto più abbondante e più sparso di quello che non si osserva nella cute dei bianchi.

Oltre a tutto questo si notavano qua e là dei cristalli aghiformi, evidentemente cristalli di sostanza grassa.

Terminata così la descrizione istologica dei preparati, e volendo riassumere, si può assomigliare questa formazione speciale ad un grosso tubercolo misto, nel cui centro si trova il microrganismo ed all'intorno, separato da uno strato di leucociti, lo strato delle cellule linfoidi ed epitelioidi e le cellule giganti. Per la gran ricchezza di vasi si hanno facilmente l'emorragie, ed un'abbondante infiltrazione, per cui in tutto il tessuto vi è la tendenza all'idropisia, e si comprende quindi il destino ultimo di questo tessuto micetomatoso, il quale si riduce alla fine in una specie di poltiglia molle e gelatinosa.

Resta ora a trattare brevemente della quistione se l'Actinomicosi ed il Micetoma siano due forme morbose identiche prodotte dallo stesso microrganismo o se pure siano differenti l'una dall'altra.

Fu il *Carter* il primo ad emettere il dubbio che le due affezioni fossero molto simili o identiche l'una all'altra; a tali vedute si accostarono *Lewis* e *Cunningham* (12) ed altri. *Kanthack* (7) ha pubblicato il suo lavoro unicamente con lo scopo di provare questa identità, che egli basa soltanto sul reperto istologico ed anatomo-patologico perchè gli mancarono i mezzi di fare culture.

Boyce e *Surveyor* (6) che hanno fra i primi coltivato l'agente specifico del micetoma sono pure dello stesso parere, e di eguale avviso è pure *Hewlett* (14). Contrario a quest'idea è *Vincent* (3) il quale dimostra in modo indiscutibile che la *streptothrix madurae* e l'*actinomices* coltivati artificialmente hanno caratteri così differenti da farli ben distinguere l'uno dall'altro. E per il concetto che io mi son potuto for-

mare, sia in seguito alle osservazioni mie personali, sia leggendo quello che dagli altri è stato scritto sull'argomento, io sono perfettamente della stessa opinione di *Vincent*, e questo per moltissime ragioni.

Vediamo intanto che la sede delle due malattie, il loro decorso, e le stesse alterazioni prodotte nei tessuti sono ben differenti nell'un caso e nell'altro. L'actinomicosi può aver sede in tutte le parti del corpo tantochè di essa si son distinte sei forme, la *bocco-faringea*, la *toracica*, l'*addominale*, la *cutanea*, la *cerebrale* e la *pioemica*, essa ha tendenza ad invadere i tessuti vicini, ed ha un decorso non molto cronico, talvolta acuto. Il micetoma invece si sviluppa quasi esclusivamente al piede (rarissimamente alle mani) le alterazioni da esso prodotte sono circoscritte alla regione del piede e mai vanno al di là dell'articolazione tibio-astrogalica, ha quasi sempre decorso cronico molto lungo.

Il micetoma è stato descritto una sola volta in Europa (dove l'actinomicosi è frequente), esso è quasi esclusivo dei paesi tropicali, e pure anche in Europa molta gente lavora da scalza la terra per una buona parte dell'anno; se actinomicosi e micetoma fossero la stessa cosa, perchè nessun caso di micetoma si dovrebbe verificare almeno nei paesi più caldi d'Europa? L'actinomicosi è più frequente negli animali che nell'uomo, invece fino ad ora nessun caso di micetoma è stato descritto negli animali, ed attualmente gli studi veterinari sono coltivati largamente in India dove ci sono varie scuole superiori per un tale insegnamento, ed una tale affezione, se si verificasse negli animali, non sarebbe certamente sfuggita all'osservazione degli studiosi di veterinaria.

Di più anche le lesioni istologiche prodotte dai due microrganismi sono differenti. I granuli che si trovano disseminati nel pus dell'actinomicosi sono più piccoli di quelli che si trovano nel micetoma, e sono generalmente di un giallo zolfo, talvolta di un rosso ruggine, non se ne trovano mai neri come nella varietà nera del micetoma, e se mai essi si trovano qualche volta nella forma addominale dell'actinomicosi, mai nella forma cutanea. La colorazione nera dei granuli di actinomicosi sparisce facilmente se i granuli son tenuti nell'alcool, mentre il colore dei granuli del micetoma è molto resistente. Le terminazioni a clava, che si riscontrano nell'*actinomices* e che da *Bostroem* sono state interpetrate come forme degenerative, o non esistono, o non si riesce a metterle in evidenza con gli stessi mezzi nel micetoma (solo *Kanthack* dice di averne viste qualche rara volta). In questa ultima forma, nella zona raggiata in degenerazione che circonda il micelio centrale, i raggi sono molto più lunghi, più grossi, e più regolari di quelli dell'*actinomices* tantochè è facile riconoscerli a prima vista; i filamenti della *streptothrix* hanno anche maggior tendenza alla degenerazione.

Nel tessuto circostante le alterazioni sono molto più gravi nel micetoma; in questa forma la neoformazione vasale è più abbondante che nell'actinomicosi, e più abbondanti sono pure le plasmacellule che

hanno come caratteristica quasi specifica di questa affezione, la tendenza all'idropisia.

L'argomento poi più importante è la differenza grande che esiste fra i due microrganismi nel loro modo di comportarsi se coltivati artificialmente. La *Streptothrix Madurae* cresce nei terreni nutritivi fatti a base d'infuso di fieno, mentre l'*actinomices* ci si sviluppa malissimo, la *streptothrix* non liquefà la gelatina, mentre l'*actinomices* la liquefà, la *streptothrix* non si sviluppa nel siero di sangue e nell'uovo, mentre l'*actinomices* vi si riproduce, l'*actinomices* spesso produce alterazioni se inoculato sperimentalmente negli animali mentre la *streptothrix* non è affatto patogena per gli animali, di più i filamenti della *streptothrix* sono più fini e più delicati di quelli dell'*actonomices*. Mi pare dunque che ci siano ragioni a sufficienza per non parlare più d'identità fra le due malattie. Si fanno delle distinzioni e si classificano a parte due batterii cromogeni che, pur assomigliandosi in tutti gli altri loro caratteri, danno nella culture una colorazione differente, perchè non si dovrebbe far distinzione fra questi due microrganismi che mostrano dei caratteri differenziali così ben marcati? E se identico non è l'agente specifico, come si può parlare d'identità di malattia? Si potrà tutto al più dire che fra le due malattie ed il loro respettivo agente specifico c'è qualche carattere di somiglianza, e che appartengono alla stessa famiglia (*Streptotrichee*).

Del resto per la stessa actinomicosi si è dovuti venire ora alla conclusione che non tutte le forme di actinomicosi sono identiche, tantochè si parla di forme *pseudo-actinomicotiche*. Il *Silberschmidt* (15) in un recente lavoro sull'actinomicosi, che riassume le vedute che si hanno oggi sulla malattia, conclude che l'antica opinione che l'actinomicosi sia una malattia specifica dovuta ad un unico fungo raggiato non è accettabile, perchè microrganismi diversi posson produrre il quadro clinico dell'actinomicosi.

Concludendo: il caso da me descritto è una varietà gialla del *Piede di Madura* da cui si potè isolare e coltivare un microrganismo che per i suoi caratteri si può ritenere identico a quello descritto da *Vincent* e da lui chiamato *Strepthotrix Madurae*, e ritenuto l'agente specifico della malattia. L'osservazione microscopica ha confermato questo reperto. Le alterazioni riscontrate nei tessuti sono caratteristiche per la loro gravità e specialmente per la presenza di abbondanti plasmacellule alterate, ed in tutto il tessuto invaso dal microrganismo vi è tendenza all'idropisia, al rammollimento.

Dai miei studi trassi la convinzione, che l'actinomicosi

ed il micetoma, quantunque abbiano qualche punto di somiglianza, sono però due malattie ben distinte fra loro, la di cui identità non è ragionevolmente ammissibile.

Firenze, Settembre 1903.

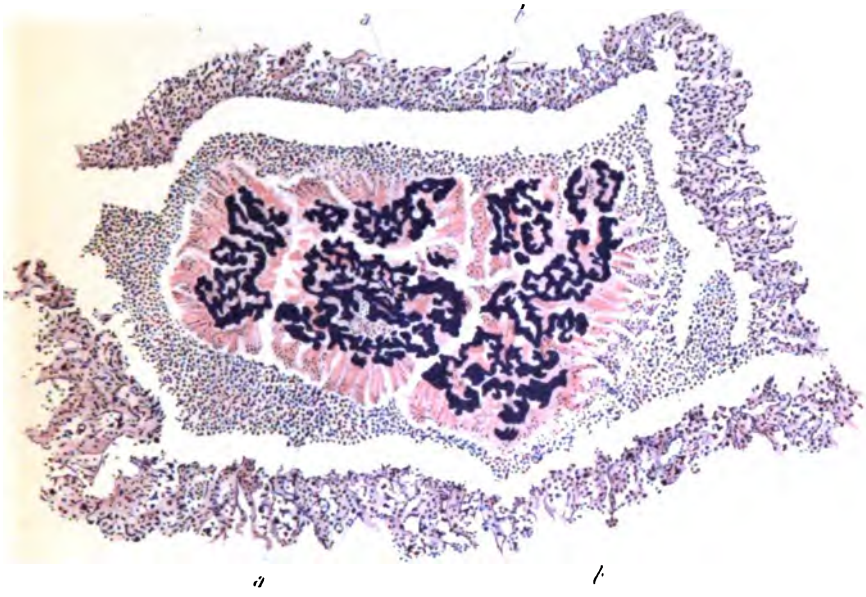
Bibliografia.

1. Bassini, Un caso di micetoma del piede. (Archivio per le scienze mediche, vol. XII, n. 15, 1888).
2. Gemy et Vincent, Affection parassitaire du pied, analogue sinon idéntique à la maladie dite « de Madura ». (Annales de Dermatologie et Syphilografie, mai 1892).
3. Vincent, Étude sur le parassite du « pied de Madura ». (Annales de l'Institut Pasteur, mars 1894, n. 3, pag. 129).
4. Godfrey, Tubercular disease of the foot. (The Lancet, June 10th 1843).
5. Vandyke Carter, On mycetoma or the fungus disease of India. (London, 1863).

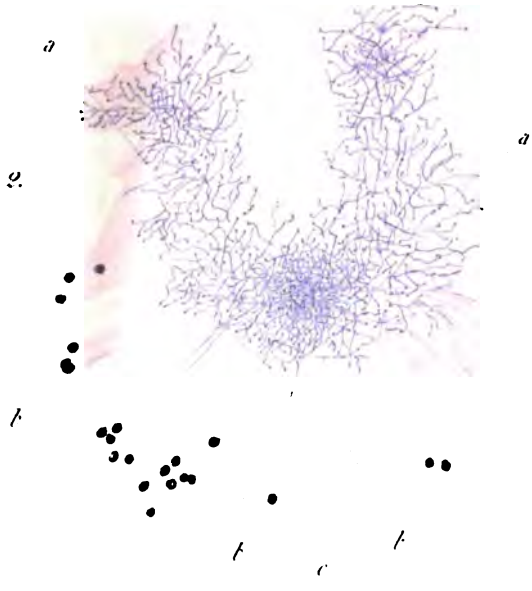
I successivi lavori si trovano parte nel « Lancet », parte nei rendiconti della « Bombay medical and physical Society ».

6. Boyce and Surveyor, Transactions of the pathological Society. (London, 1892).
7. Kanthack, Madura disease (Mycetoma) and actinomycosis. (The Journal of pathology and bacteriology, October 1902, n. 2).
8. Vandyke Carter, Proceedings of the Bombay medical and physical Society, IX, 1886, pag. 86.
9. Monti, Sulla conservazione dei preparati anatomici per museo. (Rendiconti del R. Istituto Lombardo di scienze e lettere, serie II, vol. XXXI, 1898).
10. Bostroem, Untersuchungen über die Aktinomykose des Menschen. (Ziegler's Beiträge zur path. Anat. und allg. Pathol., Bd. IX, Heft 1, 1890).
11. Unna und Del Banco, Beiträge zur Anatomie des indischen Madurafusses (Mycetoma). (Monatshefte für praktische Dermatologie, Bd. XXXI, No. 12, 1900).
12. Lewis and Cunningham, The 11th annual report of the Sanitary Commissioner with the Government of India. (Calcutta, 1875).
13. Foà P., Sulla produzione cellulare nell'infiammazione ed in altri processi analoghi, con particolare riguardo alla produzione delle plasmacellule. (Memorie della Reale Accademia delle Scienze di Torino, serie II, 1902, vol. LII, pag. 259).
14. Hewlett, On actinomycosis of the foot commonly known as Mad foot. (The Lancet, 2nd July 1892).
15. Silberschmidt, Ueber die Actinomykose. (Zeits. f. Hyg., Bd. XXXVI 1902, S. 345).

1.



2.

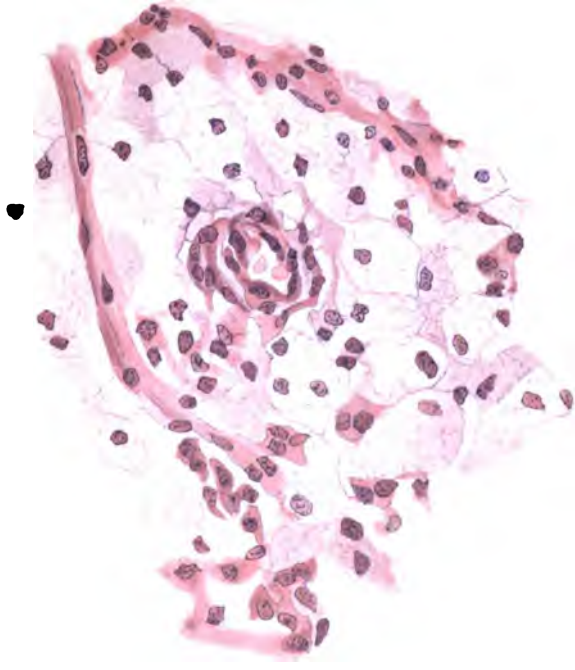


Polverini – *Ricerche sul Piede di Madura*

Romanelli dis.

3.

4.



Polverini – *Ricerche sul Piede di Madura*

Romanelli dis

RESOCONTO

DELLA

SECONDA RIUNIONE

DELLA

SOCIETÀ ITALIANA DI PATOLOGIA

tenuta in Firenze nei giorni 5, 6, 7 Ottobre 1903.

Elenco dei Soci.

Azzurrini F. — *Firenze*

Banti G. — *Firenze*
Barbacci O. — *Siena*
Baroncini L. — *Imola*
Belfanti S. — *Milano*
Bianchini S. — *Lucca*
Bignami A. — *Roma*
Biondi D. — *Siena*
Bizzozero E. — *Torino*
Bono D. — *Oulx*
Bonome A. — *Padova*
Bosi C. A. — *Siena*
Brazzola F. — *Bologna*
Bruschettini A. — *Torino*
Burci E. — *Firenze*

Cagnetto G. — *Padova*
Carbone T. — *Modena*
Carle A. — *Torino*
Castellani A. — *Colombo* (*Ceylon*)
Cavagnis V. — *Venezia*
Ceci A. — *Pisa*
Celli A. — *Roma*
Centanni E. — *Cagliari*
Cesa-Bianchi — *Pavia*
Cesaris-Demel A. — *Parma*
Cirincione G. — *Genova*
Codivilla A. — *Bologna*
Conforti G. — *Firenze*
Conti A. — *Sassari*
Cozzolino V. — *Napoli*

D'Arrigo G. — *Napoli*
De Vecchi B. — *Bologna*
Della Rovere D. — *Milano*
Di Mattei E. — *Catania*
Dionisi A. — *Roma*
Donaggio A. — *Modena*
Donati A. — *Torino*
Di Vestea A. — *Pisa*

Fabris A. — *Torino*
Federici F. — *Firenze*
Ferrari A. — *Parma*
Ferrari E. — *Trieste*
Fichera G. — *Roma*
Foà P. — *Torino*
Foà C. — *Torino.*
Forlanini C. — *Pavia*

Gabbi U. — *Messina*
Galeazzi R. — *Milano*
Galeotti G. — *Siena*
Golgi C. — *Pavia*
Griffini L. — *Genova*
Grixoni G. — *Bologna*
Guarnieri G. — *Pisa*
Guerrini G. — *Firenze*
Guizzetti P. — *Cagliari*

Jatta M. — *Roma*

Levi della Vida M. — *Roma*
Lustig A. — *Firenze*

Luschi S. — *Pisa*
Luzzatto A. — *Venezia*

Maffucci A. — *Pisa*
Maggiora A. — *Modena*
Marchiafava E. — *Roma*
Marini G. — *Bologna*
Martinotti G. — *Bologna*
Martinotti C. — *Torino.*
Marzocchi V. — *Torino*
Massart G. — *Firenze*
Monti A. — *Pavia*
Morpurgo B. — *Torino*
Motta Coco A. — *Catania*
Muscatello G. — *Catania*

Nazari A. — *Roma*
Negri A. — *Pavia*

Ottolenghi D. — *Siena*

Pane N. — *Napoli*
Parodi U. — *Torino*
Pellizzi G. — *Sassari*
Pende N. — *Roma*
Pepere A. — *Pisa*
Perroncito E. — *Torino*
Perroncito A. — *Pavia*
Petrone A. — *Napoli*
Piana G. P. — *Milano*
Pianese G. — *Napoli*
Picchi L. — *Firenze*
Pizzini L. — *Bergamo*

Polverini G. — *Firenze*
Putti V. — *Bologna*

Ravenna E. — *Padova*
Remedi V. — *Cagliari*

Sacerdotti C. — *Torino*
Salvioli I. — *Padova*
Sclavo A. — *Siena*
Segale M. — *Genova*
Sirena S. — *Palermo*
Silva B. — *Torino*
Stori T. — *Firenze*
Strada F. — *Pavia*
Starzi P. — *Milano*

Tanzi E. — *Firenze*
Tiberti N. — *Firenze*
Tizzoni G. — *Bologna*
Traina R. — *Pavia*
Trambusti A. — *Palermo*

Ughetti G. B. — *Catania*

Valan A. — *Bergamo*
Vanzetti F. — *Torino*
Vassale G. — *Modena*
Veratti E. — *Pavia*
Vincenzi L. — *Sassari*

Zanfrognini A. — *Modena*
Zenoni C. — *Milano*
Zoppi A. — *Bologna*

Nel suo primo anno di vita la *Società italiana di Patologia* ha avuto uno sviluppo quale forse nessuno avrebbe osato sperare.

Da ogni regione d'Italia, comprese quelle politicamente non italiane, sono venute in gran numero l'adesioni per parte dei più insigni cultori della Patologia ed oggi la Società conta 114 Soci.

Al II Congresso della Società che fu tenuto in Firenze il 5, 6, 7 Ottobre p. p. sono intervenuti oltre 100 Soci, accorsi da tutte le provincie d'Italia, dall'estremo Sud all'estremo Nord. Non sono mancati i colleghi delle regioni politicamente non italiane, i quali hanno così dato al convegno il carattere di un Congresso dei Patologi di lingua italiana.

Anche il II Congresso ha mantenuto il carattere familiare che aveva avuto l'antecedente. Non festeggiamenti, ma un lavoro intenso, serio, assiduo, il quale ha dimostrato in modo luminoso quanto alti siano gli ideali scientifici dei nostri Patologi.

Il numero delle Comunicazioni fatte al Congresso è stato considerevole, come apparirà dal successivo Resoconto sommario. La ristrettezza del tempo ha impedito ad altre molte Comunicazioni annunciate di venire svolte. Tanto grande era il materiale scientifico, che per esaurirlo sarebbe stato necessario prolungare il Congresso almeno di altri due giorni.

Le dimostrazioni dei preparati microscopici vennero fatte in ora ed in locali speciali, diversi da quelli ove si tenevano

le Assemblee. Benchè fossero a disposizione dei Soci più che venti microscopi completi, con oggettivi a immersione omogenea, app. *Abbé* ecc., nondimeno questo numero apparve insufficiente di fronte alla copia e all' importanza delle dimostrazioni che avrebbero dovuto tenersi.

Un apparecchio *Koristka* per la proiezione di micro-fotografie e di preparati microscopici era a disposizione dei Soci, alcuni dei quali se ne servirono per illustrare le loro Comunicazioni. Noi crediamo che questo mezzo, il quale incontrò l' approvazione dei Soci, dovrebbe nelle future riunioni prendere uno sviluppo maggiore, poichè mentre rende le Comunicazioni più efficaci e più attraenti, vale anche a risparmiare assai tempo divenendo in gran parte inutili le dimostrazioni dei preparati al microscopio.

La più franca cordialità regnò sempre tra i Soci intervenuti al Congresso, il quale così, oltre al suo altissimo e pienamente raggiunto scopo scientifico, ha reso più fraterni i vincoli che uniscono tutti i cultori italiani della Patologia.

G. Banti. A. Lustig.

RESOCONTO DELLA SECONDA RIUNIONE

DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI PATOLOGIA

tenuta in Firenze nei giorni 5, 6, 7 Ottobre 1903.

Adunanza antimeridiana del 5 Ottobre.

Seggono al banco della presidenza i professori PESTALOZZA, FOÀ e GOLGI. Fungono da Segretarii i dottori POLVERINI e PICCHI.

Il prof. PESTALOZZA, a nome del Preside della Facoltà Medico-Chirurgica assente da Firenze, dà il ben venuto ai Congressisti, ringrazia gli intervenuti alla prima riunione di Torino per aver designato Firenze a sede dell'attuale seconda riunione e invita i convenuti a dar principio ai loro lavori.

Il prof. FOÀ a nome dei congressisti ringrazia il prof. PESTALOZZA e per lui la Facoltà Medico Chirurgica, quindi dà la parola ai vari conferenzieri.

LUZZATTO A. M. — Sull'esistenza e lo sviluppo di una sostanza cianofila e di una sostanza eritrofila nella cellula nervosa. Nota preventiva. (Con dimostrazione di preparati).

Facendo seguito ad alcune mie recenti ricerche sulla colorazione a fresco della cellula gangliare ho applicato ai centri nervosi, previa fissazione in alcool ed inclusione in paraffina, la colorazione proposta da *Unna* e *Pappenheim* per la dimostrazione delle *Plasmazellen*. Riassumo qui brevemente sotto forma di comunicazione preventiva alcuni fatti già constatati con questo metodo sulle cellule nervose dell'uomo, di animali appartenenti a varie classi, di embrioni umani e di pollo in varie epoche del loro sviluppo.

Colorando la cellula nervosa col miscuglio di pironina e di verde di metile, ossia con due sostanze basiche l'una rossa, l'altra verde-azzurra, ho potuto pienamente confermare quanto aveva già visto nelle colora-

zioni eseguite a fresco; nelle cellule somatocrome i corpi di *Nissl*, la membrana nucleare, il nucleolo sono eritrofili, sono cianofile solo alcune zolle o striscie minutissime e non costanti poste attorno al nucleo. Nelle cellule cariocrome lo scarso protoplasma è eritrofilo, la membrana nucleare ora cianofila, ora eritrofila, il nucleolo ed i nucleoli sono eritrofili; nel nucleo vi sono poi zolle cianofile e granulazioni cianofile minutissime, tanto più rare quanto più evoluto è l'elemento. I granuli e le cellule di glia sono interamente cianofile e nelle sezioni ottenute da pezzi fissati non vi si vede il nucleo eritrofilo da me descritto nei preparati ottenuti a fresco. In base a questo reperto possiamo affermare che i corpi di *Nissl* sono composti di una sostanza basofila, ma dotata di una basicità debole perchè non assumono il verde di metile. Possiamo anche dire che hanno molte analogie col granoplasma delle *Plasmazellen* perchè si comportano come questo di fronte alle sostanze coloranti, e perchè al pari di questo si dissolvono in minutissimi granuli per l'azione prolungata (24 ore) di una soluzione di cloruro sodico al 10 per cento. Resta invece intatto il nucleolo che perciò sembra avere composizione chimica diversa da quella delle zolle cromofile; infatti, a differenza di queste, debolmente, ma nettamente basofile, esso si tinge bene anche coi colori acidi; avrebbe quindi reazione amfofila, simile in ciò a molte sostanze albuminoidi le quali contengono radicali acidi, accanto a radicali basici.

Studiando comparativamente col metodo suaccennato le cellule nervose in varii animali vertebrati ed invertebrati (uomo, coniglio, bue, pollo, piccione, *rana esculenta*, *gobius paganellus*, *sepia oficinalis*, *murex brandaris*) ho potuto osservare quanto segue: da classe a classe e da specie a specie si possono osservare numerose varietà riguardanti la forma delle zolle cromofile, il modo di distribuirsi, la maggiore o minore abbondanza della sostanza eritrofila e della cianofila nel nucleo; si tratta però di varietà troppo piccole e troppo, dirò così, capricciose, per essere in grado di determinare attualmente se esse sieno in rapporto con particolari leggi filogenetiche o con speciali condizioni funzionali degli elementi. Posso affermare soltanto come ad un fatto non privo di interesse che i corpi di *Nissl* sono tanto meno individualizzati, tendono tanto più a risolversi in finissimi granuli quanto più si scende nella scala zoologica.

Del resto venendo a fatti d'indole più generale, posso confermare, anche con questo metodo di colorazione quanto ha già annunciato *Levi*, che cioè in tutta la scala zoologica la massima differenziazione spetta ai neuroni più lunghi, la minima ai neuroni più brevi. Infatti le cellule dei gangli sono altamente differenziate anche negli invertebrati e così pure le cellule spinali nei vertebrati inferiori; tali cellule mancano invece in questi animali in corrispondenza della corteccia cerebellare cor poste solo di neuroni brevi. Possiamo dunque affermare che il tipo del cellula nervosa è nelle sue grandi linee sempre uguale in tutta la sca

zoologica, ma che varia solo la differenziazione nei singoli organi, differenziazione che, per quel che riguarda gli organi a funzioni più complesse, raggiunge il massimo grado solo negli animali superiori.

Ho eseguito anche alcune ricerche su embrioni di pollo rispettivamente di 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 giorni e su feti umani di cm. 2 $^1/_2$, 6, di 5-6-9 mesi. Espongo i principali risultati fin qui ottenuti riserbando ad ulteriori ricerche lo studio dei molti particolari che il metodo *Unna-Pappenheim* può mettere in luce. I fatti più salienti che si riscontrano nello studio dello sviluppo della cellula nervosa sono: 1) la trasformazione del nucleo dei neuroblasti da cianofilo in fortemente eritrofilo; 2) l'apposizione di sostanza eritrofila attorno al nucleo quasi privo di protoplasma dei neuroblasti stessi; 3) nelle cellule somatocrome la differenziazione delle zolle cromofile. Non mi è riuscito di poter constatare con sicurezza se la differenziazione del nucleo proceda l'apposizione del citoplasma eritrofilo o viceversa, o se infine i due processi avvengano contemporaneamente. La differenziazione del nucleo comincia colla comparsa di un nucleo eritrofilo e segue colla rarefazione e scomparsa (o trasformazione) della sostanza cianofila che in parte si raccoglie in piccole zollette, e colla trasformazione della membrana da cianofila in eritrofila. Il citoplasma sembra formarsi per apposizione di materiale proveniente dal tessuto circostante. Come lo proverebbero (in certe epoche dello sviluppo) granuli eritrofili sparsi nel tessuto e più numerosi attorno ai neuroblasti. La formazione delle zolle cromofile ha luogo solo quando il citoplasma ha raggiunto un certo volume ed il nucleo si è completamente differenziato. Mentre da prima il citoplasma è composto di finissimi granuli eritrofili formanti una specie di reticolo, i corpi di *Nissl* sembrano formarsi per deposizione di sostanza eritrofila sulle maglie di questo reticolo; la loro formazione comincia sempre alla periferia dell'elemento. Cariocinesi si notano solo in elementi e nucleo interamente cianofilo.

La differenziazione degli elementi nervosi non si completa nello stesso tempo in tutte le regioni dell'asse cerebrospinale, mentre essa si inizia presso a poco contemporaneamente lungo tutti i centri nervosi. Si differenziano da prima le cellule dei gangli spinali, poco dopo, quasi contemporaneamente quelle del midollo in cui i segmenti distali si sviluppano prima dei prossimali: seguono il bulbo, i gangli della base, i nuclei del cervelletto. La corteccia cerebellare e la cerebrale non si sviluppano completamente che dopo la nascita ed i diversi lobi di quest'ultima non si differenziano nello stesso tempo, già notato anche da altri. Credo molto importante il loro completo sviluppo in epoche diverse nelle varie parti dei centri nervosi, perchè penso che esso potrebbe utilmente combinarsi allo studio della mielinizzazione delle fibre e controllarne efficacemente i risultati che oggidì vengono messi in dubbio da qualcuno, almeno per quel che riguarda molti particolari. Questo

stesso fatto ci fornisce poi una nuova prova degli intimi rapporti esistenti fra ontogenesi e filogenesi; infatti sono ultime a differenziarsi le grandi cellule del telencefalo, che negli animali inferiori sono appunto poco differenziate.

Prima di finire desidero poi insistere su di un fatto già notato da altri, ma sfuggito ai più, voglio cioè alludere allo sviluppo dei corpi di *Nissl*, sviluppo che si inizia alla periferia della cellula e che unito alla posizione eccentrica del nucleo negli elementi in questo stadio ci dà un aspetto della cellula simile a quello che si osserva dopo il taglio del cilindrasse. Vien dunque fatto di chiedersi insieme con *Bierolvet* (?) se in quest'ultimo caso non si tratti di un ritorno dell'elemento allo stato embrionale; ciò darebbe ragione all'ipotesi di *Lugaro*, il quale pensa che in questo processo la reazione cellulare metta in evidenza molti particolari morfologici che trovano riscontro in caratteri permanenti dei vertebrati più bassi e perciò anche di certi stadii dello sviluppo embrionale.

Discussione.

LEVI fa osservare al Relatore che oggidì la denominazione di sostanza eritrofila e cianofila (introdotta da *Auerbach* nello studio delle uova) è stata completamente abbandonata, perchè le stesse sostanze a seconda del colore che si adopra si possono colorire rispettivamente in rosso ed in azzurro; è molto più razionale la denominazione di sostanza basofila ed acidofila.

Inoltre si potrebbe obbiettare al Relatore che secondo le ricerche di *Levi* non le sole cellule somatocrome presentano nel nucleo i caratteri di un'elevata differenziazione, hanno cioè la nucleina centralizzata (raccolta alla periferia del nucleolo), ma tutte le grandi cellule nervose ricche di citoplasma; mentre secondo la distinzione di *Nissl* le cellule somatocrome sarebbero soltanto una varietà delle grandi cellule ricche di citoplasma; del resto la distinzione di *Nissl* è oggi completamente abbandonata.

LUZZATTO non ha voluto dare molta importanza ai due nomi di sostanza cianofila ed eritrofila, ma nel metodo di colorazione da lui impiegato, le due sostanze si comportano in presenza dei colori in modo da meritare quel nome; ritiene che l'elettività delle due sostanze per i colori sia un fatto fisico.

LEVI ritiene inesatta l'affermazione del Relatore che nella colorazione dei preparati istologici entrino in giuoco fatti fisici e non chimici; per la nucleina *Kossel* ha dimostrato in vitro che la sua colorazione un fatto veramente chimico; del resto *M. Heidenheim* in un recente l voro sostenne che costantemente la colorazione dei preparati istologi. è da ritenersi un fatto chimico.

C. GOLGI. Anche si associa alle osservazioni già fatte del collega *Levi*, prega l'Oratore di volergli fornire una spiegazione intorno al significato da lui dato alla parola *differenziazione* da lui usata e nel riguardo del corpo delle cellule nervose e nel riguardo del nucleo. Se si ricorda come quella parola sia stata usata con significato diverso — compreso quello di trasformazione di certe categorie di elementi in altri — si troverà la ragione della preghiera che egli si è permesso di risvolgere al dott. *Luzzatto*.

LUZZATTO. Risponde che generalmente le cellule nervose sono considerate come elementi altamente differenziati e che non intendé dare alla parola differenziazione il significato di modificazione graduale della cellula.

LUZZATTO A. M. — Sulla carcinosi gastrica diffusa ed i suoi rapporti con la linite plastica. (Con dimostrazione di preparati).

L'A. riferisce estesamente su due casi di lesione gastrica che ha avuto occasione di esaminare e studiare dal lato delle alterazioni macroscopiche ed istologiche.

In ambedue i casi il reperto macroscopico era quello tipico della linite plastica: stomaco diminuito assai di volume, rigido, cavità diminuita (200 e 500 cmc.): parete dura, stridente, assai ingrossata (da 10 mm. a 20 mm.) con le tonache ben distinguibili ma nettamente unite con spessore aumentato prevalentemente nella sottomucosa.

Nessuna alterazione sulla mucosa in qualsiasi regione dello stomaco.

Istologicamente le stesse alterazioni nei due casi, solo a differente periodo di sviluppo, consistenti in traformazione degli strati profondi della mucosa in nidi di cancro ed infiltrazione neoplastica più o meno diffusa con forte produzione di connettivo.

Le lesioni anatomiche dimostravano chiaramente la coesistenza di un adenocarcinoma con un processo di linite plastica. Quanto ai rapporti intercedenti fra i due processi, l'A. considerando che in ambedue i casi il carcinoma era sopratutto diffuso in superficie e poco invece in profondità, e che al contrario esisteva un'ipertrofia avanzatissima della sottomucosa, della muscolare ed in parte anche della sierosa, è d'opinione che la linite plastica sia primitiva, e che l'irritazione esercitata sulla muccosa dall'iperplasia connettivale della sottomucosa abbia determinato una proliferazione atipica delle cellule epiteliali. E tale opinione è anche avvalorata, oltre che da molte considerazioni indirette, dalla lunga durata della malattia, che in uno dei due casi fu di 17 anni.

Ammessa in tal modo la primitività della linite, l'A. richiama l'attenzione sul fatto che in entrambi i casi mancavano affatto lesioni infiammatorie e distruttive della mucosa, ciò che dimostra la possibilità

di un'ipertrofia primitiva della sottomucosa indipendente da lesioni della mucosa.

Perciò, concludendo, l'A. crede si possa affermare che in certi casi la linite plastica è una forma di sclerosi primitiva della sottomucosa con estensione al connettivo della muscolare e della sierosa e ipertrofia della muscolare; e che in seguito a tale processo la mucosa può essere atrofizzata secondariamente per invasione di connettivo o presentare una proliferazione atipica dei suoi elementi epiteliali.

MOTTA-COCO A. — Secondo contributo allo studio delle granulazioni fucsinofile della cellula dei gangli spinali.

Ho ripetuto in una prima serie di ricerche lo studio da altri praticato sulle granulazioni fucsinofile delle cellule nervose dei gangli spinali, proponendomi anch'io di portare un contributo alla questione sempre aperta circa il valore da assegnarsi alle granulazioni suddette, se, cioè debbano considerarsi come prodotti del ricambio materiale (*Held*, *Acquisto*, *Levi*), o parti deputate alla conduzione (*Altmann*), o residui di citoplasma degenerato. In secondo luogo ho tentato di stabilire la sede di tali *neurosomi*, con intendimento di rilevare la loro posizione tanto in rapporto ai varii costituenti del protoplasma, quanto a quello del nucleo e del citoplasma dell'elemento nervoso.

Ho esperimentato sui gangli di coniglio e di rana. Mi sono servito per i mezzi di tecnica del metodo adottato dal *Levi*, impiegando, perciò, per sostanza colorante la fucsina e decolorando con una soluzione alcoolica di acido picrico; le zolle cromatiche le ho tinte con il bleu di metile, le fibrille con l'eosina.

Nei differenti stadî della cellula, di riposo, procurato a mezzo del curaro iniettato ipodermicamente non a dosi tossiche, di attività, determinato a mezzo di stimoli chimici ed elettrici, di esaurimento, prolungando l'azione dell'elettricità o aumentandone per breve tempo l'intensità, di avvelenamento adoperando, per iniezioni ipodermiche dosi moderate di acido pirogallico, ho riconfermato i risultati di recente pubblicati in collaborazione con lo studente *Lombardo*, che press'a poco sono eguali a quelli precedentemente ottenuti dal *Levi* in un lavoro sullo stesso argomento, cioè:

1° La cellula dei gangli spinali può contenere nel citoplasma e nel nucleo un certo numero di granulazioni fucsinofile, di dimensioni variabili, situate negli spazii interfibrillari e tra la rete acromatica nucleare.

2° Tali granulazioni — i così detti neurosomi di *Held* — scompa iono o quasi nel periodo di riposo della cellula; aumentano progressiv mente e raggiungono le maggiori quantità man mano che si proce nello stadio di attività e si giunge all'*optimum* di esplicazione di ene

gia cellulare; diminuiscono gradatamente a guisa che l'elemento ganglionare si esaurisce per il protratto o eccessivo lavoro; si notano abbastanza rarefatti durante gli effetti di un veleno emolitico, per ricomparire a poco a poco numerosi quando la sostanza tossica ha perduta la sua azione.

3° Il rapporto osservato tra il numero delle granulazioni e i diversi stadi funzionali della cellula dei gangli intervertebrali, influisce moltissimo per potere approssimativamente determinare il valore morfologico e fisiopatologico dei granuli fucsinofili; cioè, essi, divenendo più numerosi negli elementi in attività, e diminuendo sino a scomparire nei tre stadii analoghi del riposo, esaurimento e avvelenamento, dovrebbero considerarsi come prodotti di disassimilazione della cellula nervosa.

* * *

L'avere rinvenuto le granulazioni più o meno grandi nel citoplasma e nel nucleo, mi portò a continuare le medesime ricerche, e questa volta per accertarmi non della presenza dei granuli secondo la fase funzionale della cellula, ma della loro distribuzione nei varii momenti nelle due differenti parti dell'elemento nervoso.

Studiando inizialmente la cellula in attività, dopo un periodo di venti minuti a mezz'ora dall'applicazione sullo sciatico di una corrente indotta di media intensità, ho visto che le granulazioni comparivano nel nucleo sotto forma di granuli grossi situati tra i fili della rete acromatica. In uno stadio successivo diminuivano nel nucleo e comparivano numerose nel protoplasma, ove tanto bene spiccano adoperando le colorazioni appropriate per le zolle e per i filamenti.

Lo stesso reperto si ha quando ricominciano a constatarsi non appena si è esaurito l'effetto tossico del pirógallolo sulla cellula; nell'esaurimento dell'elemento diminuiscono e poi scompaiono prima nel nucleo ed in seguito nel citoplasma.

Non ho sufficienti prove per affermare che i *cario granuli* fucsinofili giunti nel protoplasma si modifichino nelle loro dimensioni, ma dico solo che mi è parso d'intravedere le *citogranulazioni* più grosse di quelle del nucleo. Se queste osservazioni si riconfermassero, probabilmente il fatto avrebbe la sua spiegazione ammettendo che dopo la prima comparsa dei granuli nel nucleo, quando questi emigrano verso il citoplasma s'ingrossino per la sovrapposizione di altro materiale di disassimilazione, che verrebbe quindi a rappresentare il prodotto del ricambio materiale del protoplasma.

Concludendo si può riassumere la seconda parte del lavoro nel seguente corollario:

I primi prodotti del metabolismo cellulare si formano nel nucleo; questi emigrano e passati nel citoplasma probabilmente si aumentano

di volume per l'apposizione di altro materiale fornito dal protoplasma. Compiutosi l'atto funzionale della cellula, i granuli scompaiono prima nel nucleo, ove tosto ricompariscono non appena s'è iniziata la fase successiva di attività. Avviene quindi un avvicendarsi di fenomeni disintegrativi con un ritmo perfetto che va dal nucleo al protoplasma; ciò fa indurre che il periodo anabolico procede con uguale equilibrio e con lo stesso meccanismo.

Discussione.

LEVI domanda uno schiarimento al dott. *Motta-Coco*; se i granuli fucsinofili che egli d'accordo col Relatore ritiene rappresentino prodotti di ricambio della cellula, avevano una localizzazione esclusivamente interfibrillare o no; perchè il *Levi* avrebbe trovato che essi avevano esclusivamente quella sede ed erano almeno dal punto di vista morfologico estranei alle zolle cromofile.

MOTTA-COCO ha osservato che veramente i granuli erano sempre situati fra le fibrille del citoplasma.

CIRINCIONE. — Degenerazione ialina nei tessuti oculari. (Con dimostrazione di preparati microscopici).

(Non è stato consegnato nessun riassunto).

CENTANNI E. — Sulle modificazioni della resistenza cellulare per opera dei prodotti dell'autolisi.

La conoscenza dei prodotti dell'autolisi, mentre è molto avanzata dal lato chimico, lo è ancor pochissimo dal lato biologico, dove non sono state illustrate che le sostanze anticoagulanti e le battericide e molto imperfettamente le litiche. L'A. cerca di ampliare questo studio di interesse sostanziale per la patologia, e riferisce una serie di prove fatte per contatto degli elementi *in vitro*.

Il *materiale attivo* è stato fornito dall'autolisi, praticata tanto col metodo asettico quanto con l'antisettico, del rene, del fegato, del cervello, del sangue, della milza e del midollo osseo; si è aggiunta l'autolisi di batteri, difterico e pneumococco. È stata promossa anche la lisi dei tessuti nel vivente, iniettando diverse sostanze tossiche; cromato d'ammonio, arsenio, cantaridina, tossina difterica, tiroidina, peptone.

Come *metodo di separazione* dei principii complessi sviluppati si è impiegato: 1° l'esame in toto nelle diverse condizioni in cui uno dei principii risultava prevalente; 2° l'avidità di assorbimento, esaurendo il liquido con tre contatti progressivi, di 5-10 minuti, di 20-30, di 3-5 ore; 3° la distruzione al calore, ripartendo le sostanze in quelle decomponibili a 60°, decomponibili a 100° e resistenti a 100°.

Gli *elementi sopra cui si sono saggiati* i prodotti dell'autolisi, sono

state la cellule ematiche, bianche e rosse, la retina, il rene e l'epitelio vibratile, seguendo in essi le modificazioni morfologiche. Sulla emulsione di milza, messa comparativamente in stufa da sola e in miscela coi prodotti autolitici, si è seguito lo svolgersi delle scissioni chimiche.

Gli *agenti patogeni* impiegati per saggiare la resistenza sono stati di tre categorie: 1ª agenti della chimica comune, soluzioni ipotoniche di ClNa, saponina; 2ª corpi aptinici, tetanolisina e stafilolisina, emolisine di sieri normali eterogenei; 3ª lisi spontanea asettica.

È risultata la presenza di quattro gruppi di principii attivi: litici, fissativi, predisponenti, protettivi. Si sviluppano in generale da tutti i tessuti, ma in dose e ordine diverso, e spesso taluno prevale e maschera gli altri, trattandosi di principii antagonisti.

Per i *principii litici* rimane assodata la loro origine dall'autolisi, mancando o essendo scarsissimi nell'organo fresco. Descrivono un ciclo di durata media di 4-5 settimane. La formazione è ricca e rapida nel fegato e nel rene, meno negli altri organi, fra cui i linfatici. Attaccano intensamente le cellule della propria specie come quelle di specie diversa. Per la sensibilità al calore e la insolubilità nell'alcool si differenziano, almeno in parte, dalle lisine dei tessuti studiate da *Korschun* e *Morgenroth*.

I *principii fissativi* innalzano la resistenza verso la lisi spontanea, sono antiautolitici. Si possono loro attribuire altri effetti: asfissia degli eritrociti, paralisi del movimento vibratile e, nel vivo, forme comatose. Si differenziano, per la maggior avidità di fissazione e resistenza al calore, dalle lisine che spesso li nascondono. Sono sviluppati specialmente nel fegato, nel rene e anche nel sangue autolitico; il fegato se ne dimostra una grande sorgente, per la preparazione diretta, per l'abbondante presenza del sangue peptonico e per alcune osservazioni cliniche, quali l'aumento di resistenza degli eritrociti nell'itterizia.

Le *sostanze favorenti* rendono più grave sulle cellule l'effetto delle sostanze nocive citate. Per una parte si tratta delle stesse sostanze litiche a dose inferiore all'attiva, per un'altra di sostanze puramente predisponenti. La predisposizione non è unica e comune per tutti i gruppi delle sostanze saggiate; è più frequente pel gruppo delle sostanze comuni e per l'autolisi, meno per le aptine, cioè è più difficile esaltare i ricettori specifici.

Le *sostanze protettive* rendono sopportabili dosi di principio nocivo che attaccano le cellule normali. Il grado non è molto elevato e raggiunge la dose minima nociva o uno dei bassi multipli di essa; si tratta di modificazione negli apparati fisiologici cellulari, che non si può spingere entro un certo limite. Che la protezione sia, almeno pel massimo numero dei casi, di carattere cellulare, piuttosto che sotto forma di anticorpo fra umori, si dimostra coi procedimenti in uso nelle prove in vitro: resistenza di vario grado al lavaggio, impoverimento delle solu-

zioni dopo il contatto, tempo di contatto che favorisce l'effetto fra cellula e protettivo e non fra protettivo e tossina. Il meccanismo di questa difesa cellulare risulta di natura complessa e finora si è potuto dimostrare: 1° diminuzione della solubilità del protoplasma cellulare, 2° abbassamento di avidità e distacco del ricettore con differenziazione della cellula, 3° neutralizzazione dei fermenti autolitici generici che entrano in iscena in ogni lesione cellulare. Questo illustra l'effetto polivalente di questi prodotti, specialmente quando più gruppi sono contemporaneamente presenti. I prodotti protettivi sono già stati rivelati dall'A. sotto il titolo di stomosine o tempranti della cellula.

Lo studio della *lisi dei tessuti in vivo* prodotta con intossicazioni, non è molto fruttifero. La resistenza dei tessuti oscilla senza norme ben determinabili, forse in rapporto alla specie de' principii antagonisti riversati nel momento in circolo e anche ai processi di rinnovamento degli elementi: notevole il frequente aumento di resistenza verso l'autolisi che acquista il rene in preda a nefrite di varia origine. Quanto alla possibilità di analizzare i principii attivi nel siero circolante, le ricerche sono il più delle volte negative; le prove in vitro lo spiegano, dimostrando che i principii attivi dell'autolisi vengono presto e spesso istantaneamente sottratti dalle cellule sensibili al liquido dove sono immerse.

I fatti esposti si prestano a *moltissime considerazioni e spiegazioni* sul corso del processo morboso, fra cui due punti debbono esser rilevati:

1° L'alterazione di un gruppo di cellule avvenuta anche per causa specifica, ripercuote il suo effetto sul generale delle altre cellule; così un organismo, che ha subito una intossicazione o infezione pregressa, risponde sempre diversamente del normale a trattamenti successivi. Scegliendo il materiale del primo trattamento e l'epoca della prova successiva, si può accentuare il fatto della predisposizione o della difesa; e in questo ordine cadono le vaccinazioni incrociate e le polivalenti, fatte appunto dall'A. con prodotti autolitici, ricchi di principii protettivi. Esistono quindi principii difensivi dell'organismo d'origine diretta, indipendenti dalla reazione di anticorpo. Così pure dovrà poi cercarsi la spiegazione dell'effetto di molti farmaci della medicina comune, che sono lenti veleni modificanti e distruttivi dei tessuti.

2° Viene rivelata una grande sorgente di veleni secondari che compaiono nelle malattie acute e più nelle croniche, dotati della maggiore attività e del più rapido e persistente sviluppo. Nelle malattie del ricambio, dove non è spiegato nè l'effetto tossico dagli attuali prodotti noti, nè il progressivo aggravarsi dal circolo vizioso delle autocitolisine di dubbia formazione, deve volgersi tutta l'attenzione ai prodotti qui studiati e alla loro avidità per non ricercarli liberi negli umori.

L'A. seguita la caratterizzazione più esatta di questi prodotti e loro impiego nel vivente.

Discussione.

SEGÀLE M. domanda al prof. *Centanni* se nel corso delle sue interessanti indagini morfologiche, chimiche, biologiche ha raccolto dati atti a chiarire la questione assai complessa e discussa del subire i processi autolitici anche le nucleine, o no.

CENTANNI risponde che ha in corso indagini in proposito.

PETRONE A. — Altre ricerche sulla reazione emato-porfirinica del globulo rosso. (Con dimostrazione di preparati).

Anche quest'anno ho continuato le mie ricerche sul sangue, e ne ho ritardata la pubblicazione per sempre più confermarne i resultati, che mi pregio di esporre a questo autorevole Congresso, onde averne il giudizio ed anche suggerimenti per lo studio pratico in Clinica.

Come resultati essenziali non ho ottenuto niente di nuovo, dopo quelli che pubblicai nello scorso anno. Ricordo, che dal reperto speciale di cristalli aghiformi giallo-bruni, che io aveva ottenuto nel nucleo del corpuscolo rosso e che in primo tempo ritenni caratteristico per l'avvelenamento da pirogallolo, e poi dell'itterizia in generale, ed infine un reperto costante il quale si ottiene quando si adopera alcool assoluto contenente tracce di anidride solforica, fui spinto a ritenere il detto reperto come il prodotto di una combinazione ferrica avvenuta per l'azione dell'anidride solforica sul ferro contenuto nel globulo rosso: questa da me chiamata *reazione ferrica*, si aveva esclusivamente nel nucleo del corpuscolo rosso, o nel suo relitto. Pareva anche chiaro, che se il reagente essenziale era l'anidride solforica, l'alcool assoluto impiegato come solvente dello stesso, impedendo l'emolisi e nel contempo fissando il globulo rosso, mentre permetteva la continuazione dello stato anidro del composto ossidato dello zolfo per tutto il tempo necessario ad ottenere il risultato microchimico, impediva dall'altra parte la dissoluzione dei cristalli, per essere questi insolubili nello stesso. Adoperando invece lo stesso reagente a forti dosi con l'acqua, si ottengono rapidamente le migliori fissazioni del sangue in tutte le sue parti morfologiche, ma il prodotto dell'intima reazione si allontana dal sito di origine, essendo sciolta da entro il corpuscolo rosso dalla stessa soluzione acida perchè acquosa, divenendo così un efficace mezzo colorante delle sostanze cromatiche nucleari.

I fatti eran questi e si ottenevano con speciali reattivi. L'interpetrazione data però non era sicura; ed il dubbio sempre più mi crebbe, quando dai prodotti ferrici comuni non potei ottenere al microscopio le stesse forme cristalline ottenute nel globulo rosso: dubbio, che diventò certezza, per non aver potuto con tutti i migliori reattivi del ferro ottenere le reazioni note. Dovei perciò correggere il mio apprezzamento,

non potendo essere ferrico quel reperto ottenuto nel globulo rosso. E siccome precisamente nello stesso posto io aveva ottenuto la dimostrazione della presenza del ferro con tutti i reattivi noti, quando metteva allo scoverto quel nocciuolo o relitto nucleare nel corpuscolo rosso dei mammiferi, assoggettando il sangue ancora vivo a certi reagenti con cui otteneva la modificazione strutturale, specialmente col liquido di *Lugol*, mi sembrò che la questione si chiarisse, interpetrando quel reperto cristallino in rapporto al ferro, non più positivo, ma negativo per la sottrazione del ferro fatta all'ematina dall'anidride solforica. Ciò mi venne confermato dall'alcool assoluto contenente piccole quantità di anidride solforosa, e più tardi dallo stesso contenente acido citrico, ovvero tartarico, coi quali potei ottenere lo stesso reperto di cristalli nel globulo rosso. E siccome gli acidi summenzionati hanno molta affinità pel ferro, sottraendolo dalle sue combinazioni meno stabili, così quel reperto che realmente era negativo per la presenza del ferro, riacquistava il valore positivo, indicando il sito ed il composto del corpuscolo rosso che contiene il ferro. Questa indicazione venne ulteriormente riaffermata dal trattamento di quantità maggiori di sangue fresco con questi acidi in soluzioni acquose, che allora per lo più non disfanno la parte corpuscolare: queste miscele filtrate danno le più evidenti reazioni dei composti ferrici o ferrosi, secondo l'acido impiegato, specialmente col solfocianuro di potassio, col prussiato giallo o col prussiato rosso.

In modo che io conchiudeva nel passato anno: 1° si può dimostrare rapidamente la presenza del ferro nel sangue fresco, senza incenerarlo; 2° probabilmente il ferro sta nel corpuscolo rosso come un composto o massimo; 3° si trova soltanto nel contenuto nucleare: almeno sinora coi reagenti conosciuti non si è potuto con sicurezza dimostrare nel resto del globulo rosso; 4° il reperto dei cristalli denota la trasformazione dell'ematina in emato-porfirina, e quindi il valor negativo pel ferro potrà servire come positivo nell'esame pratico del sangue.

Se non che, ed è questa la parte nuova della mia comunicazione, il reperto cristallino di ematoporfirina nel nucleo del globulo sanguigno non si ottiene sempre facilmente, come anche a me è avvenuto varie volte: ed allora potrebbe sorgere il dubbio del valore reale del risultato, e mancherebbe il metodo sicuro per fare sistematicamente studi sull'argomento. Non avrei qui bisogno di ripetere ciò che ho detto tante volte, che il sangue bisogna fissarlo bene, adoprare buoni reagenti, non solo metodicamente, ma ancora pel tempo richiesto, ande evitare la frammentazione, dislocazione di quel reperto microchimico, e perfino la sua dissoluzione e scomparsa. Devo ancora una volta dichiarare che le difficoltà le ho incontrate anch'io per alcuni anni, principalmente non poter sempre disporre di reagenti puri, e per la stagione spec in cui faceva le mie ricerche; ed infatti i risultati erano più sicu perfetti in estate che nell'inverno. Contribuiva inoltre all'incostanza

risultati il non giusto apprezzamento fatto dei reperti ottenuti, per cui avrei dovuto evitare prima dell'allontanamento dell'acido, l'azione dissolvente di qualsiasi traccia di acqua sui prodotti cristallini ottenuti, perchè essi si sciolgono nelle soluzioni acquose degli stessi acidi reagenti; e quindi evitare il vapore acqueo dell'ambiente, non far restare molto i preparati nell'alcool assoluto col reagente, ove per le tracce di acqua che si assorbono e si sommano, dopo un certo tempo viene la dissoluzione e scomparsa dei cristalli. Il fatto mi aveva dimostrato che alcune sostanze, specialmente composti di ferro, a preferenza il percloruro, sciolte in alcool assoluto ed addizionate in minor quantità all'alcool solforico, impediscono la dissoluzione di quel reperto cristallino: fanno lo stesso anche il caucciù, il sublimato corrosivo, ecc. ecc.: e per i composti di ferro, devo ripetere, che non erano essi che potevano dare lo speciale reperto, il quale si otteneva anche senza di essi; tanto più che quei composti di ferro aggiunti erano allontanati nei lavaggi ulteriori; e poi mancava nei cristalli ottenuti la reazione dei composti di ferro.

Come ho esposto in una delle memorie precedenti, io riparava ad uno degli inconvenienti, allontanando prima le tracce di acido del reagente, immergendo immediatamente i preparati modificati in altro mezzo anidro, solvente però dell'acido residuale, cioè l'alcool assoluto, nel quale facendo restare i preparati per parecchie ore, si ottiene anche il risultato della definitiva fissazione del globulo rosso, oltre il fatto essenziale dell'allontanamento dell'acido: così non avviene più emolisi in contatto coll'acqua, o soluzioni coloranti acquose, ed i cristalli sono perfettamente rispettati.

Le ultime ricerche, di cui ho esposto i preparati, mi hanno permesso di conchiudere, che le condizioni per ottenere costantemente il reperto sono: 1°, reagenti puri, quindi oltre l'alcool assoluto di migliore qualità, l'acido solforico più puro: è perciò, che dopo aver sperimentato di nuovo le varietà di acido solforico *Kahlbaum*, *Schering*, *König*, *Merck*, *Erba*, da tutti si ha il reperto, ma il migliore dal *Kahlbaum* ed anche *Schering*; questo al titolo stabilito di 1 : 8000 di alcool assoluto, il *Kahlbaum* di 1 : 10000 : 2°, che vi abbisogna una certa temperatura, e la migliore è a 30°C., ove i preparati 3° non devono restare più di un'ora: ad una temperatura più alta i preparati devono essere assoggettati per un tempo minore, in modo che a 40°C. bastano 10 minuti: allora però la fissazione non è perfetta, e si corre il rischio dell'emolisi: diminuendo la temperatura, il risultato si ottiene più difficilmente, e più tardi: ciò conferma trattarsi di una reazione intima; in modo che, specialmente l'inverno sarà molto utile pel buon risultato servirsi del termostato a 30°c. per un'ora: 4°, il reagente preparato si tenga ermeticamente chiuso in bottiglina contagocce con turacciolo smerigliato e non si adoperi al di là di 2 settimane: io nello stesso mese di agosto ultimo, ho ripetuto parecchie volte la prova, ed è sempre risultato il fatto, che la

soluzione madre di acido solforico in alcool assoluto, 1 goccia in 10 c.c. di alcool, quella che poi si rende coll'aggiunta di altro alcool assoluto al titolo di 1:8000, 1:10000 ogni volta che deve servire, tale soluzione madre di giorno in giorno scapita nella proprietà di dare buoni preparati, e dopo 15 a 20 giorni per lo più il reperto non è più evidente e sovente si ha il risultato dell'emolisi. Quale sia la ragione di ciò, a me riesce difficile pronunziarmi con sicurezza: non mi pare probabile che l'acido solforico si alteri nell'alcool assoluto, essendo un composto eminentemente stabile: molto probabilmente saranno le tracce di acqua, che 2 sostanze, come l'anidride solforica e l'alcool assoluto, fortemente avide di essa, assorbono, anche conservando tutte le precauzioni possibili. In conclusione mettendo tutte le suddette condizioni, la reazione si ottiene costantemente col reperto dei cristalli di ematoporfirina, e per renderlo stabile abbisogna dopo il bagno prolungato in alcool assoluto.

Per l'acido citrico e tartarico, anche messe le condizioni suddette, vi abbisogna un tempo maggiore, come comunicai in un lavoro precedente; anzi i preparati migliori si ottengono dopo 24 ore di permanenza nel reagente; mentre come ho detto altrove per l'anidride solforosa, quando il reagente è ben riuscito sono sufficienti pochi minuti.

Dopo aver stabilito queste condizioni favorevoli ho ritentato la prova con le soluzioni alcooliche adatte di altri acidi, e particolarmente del nitrico, del cloridrico, dell'acetico: il risultato finora mi è stato sempre negativo pel reperto dei cristalli ematoporfirinici, anche quando non avviene emolisi: forse più tardi ciò si potrà ottenere moltiplicando i tentativi, che finora per me sono restati muti.

Voglio lusingarmi che, stabilite le condizioni tecniche per ottenere costantemente il reperto in parola, potranno iniziarsi le ricerche sistematiche cliniche sugli infermi, per ricercare il valore quantitativo del ferro contenuto nel corpuscolo rosso, desumendolo dalla quantità di ematina decomposta, residuale (ematoporfirina) del globulo sanguigno. Alcuni anni fa io aveva cominciato questi studî sul sangue clorotico, ecc., e già accennai ai risultati che mi parvero degni di considerazione: bisogna ora ricominciare fiduciosi per la tecnica sicura.

Devo infine anche ora ripetere, che la mancanza costante di quei cristalli non solo nei corpuscoli bianchi, ma anche nelle piastrine, conferma, a parer mio, insieme con tutte le altre ragioni da me esposte in altra occasione, che le piastrine non derivano dalla massa nucleare degli eritroblasti, in cui si ottengono anche i cristalli; i quali non dovrebbero mancare all'intutto e costantemente nelle piastrine, se queste provenissero dal nucleo dei corpuscoli rossi: e quindi fino a positive dimostrazioni in contrario, ritengo che si deve dare alle piastrine un valore autono o, contro la recente opinione emessa da *Engel* e seguita da altri.

D'ARRIGO G. — Studi comparativi sulla morfologia del bacillo tubercolare nei tessuti umani, bovini ed aviari. (Con dimostrazione di preparati).

Per le mie ricerche sul bacillo tubercolare nei tessuti umani ho utilizzato il ricchissimo materiale dell'Istituto anatomo-patologico, materiale gentilmente concessomi dal Direttore prof. *Schrön*, che qui ringrazio.

I tessuti bovini, per squisita cortesia del Direttore del macello di Napoli, ho potuto averli da quel mattatoio e quelli aviari dal mercato dei polli ed un caso da un pollaio privato. Quest'ultimo caso è interessante perchè dimostra ad un certo punto la facilità con cui il pollo si contagia di tubercolosi umana per ingestione di espettorato tubercolare.

Infatti si tratta di un pollo che per circa 8 mesi era stato tenuto in contatto ed aveva ingerito gli espettorati di una signora affetta da tubercolosi (1).

In un mio lavoro riassuntivo sulla morfologia del bacillo tubercolare nelle glandole scrofolose, pubblicato nel 1900 (Atti del Congresso di Napoli contro la tubercolosi) ho potuto constatare in dette glandole, oltre alle forme comuni del bacillo tubercolare (bacillo liscio ed a rosario) le seguenti altre forme:

1° bacilli sottili, lunghi, filamentosi, isolati o disposti in ciuffi od a lunghe catene, con uno o due granuli rigonfiati e fortemente colorati;

2° bacilli con ramificazioni laterali, con gemmazioni, con divisioni dicotomiche, con rigonfiamenti terminali a clava;

3° bacilli fortemente rigonfiati come sacchetti od otricoli ripieni di granuli germinali intensamente colorati;

4° bacilli corti e tozzi, alcuni composti di due o tre granuli grossi disposti in serie, altri con piccole gemmazioni laterali e con ramificazioni;

5° bacilli sottilissimi lunghi o corti composti di piccolissimi granuli neri o di color giallo verdastro;

6° piccoli granuli germinali sferici, fortemente colorati e disposti ora isolati, ora a piccoli gruppi, ora a grossi cumoli;

7° grossi granuli sferici ed ovoidali (presumibilmente capsule bacillifere di *Schrön*) isolati od a piccoli gruppi.

Ho potuto estendere le mie ricerche a quasi tutti gli organi e tessuti umani nelle più svariate forme di tubercolosi e nelle diverse età dei soggetti colpiti, ed ho potuto notare che le forme già descritte nella scrofolosi si riscontrano in maggiore o minor copia nelle forme lente di tubercolosi ed in quelle localizzate alle ossa, alle capsule articolari, alla cute; mentre nelle forme di tubercolosi a rapido decorso ed in quelle

(1) Come metodi di fissazione dei tessuti e di colorazione del bacillo, uso sempre quelli già pubblicati nel *Centralblatt für Bact.* (1897), e che mi hanno i migliori risultati.

dell'infanzia prevalgono le forme comuni del bacillo e solo raramente si trovano forme ramificate o capsulari libere.

Quanto alle modalità dell'aggruppamento la disposizione a gruppi ed a grossi fasci si riscontra a preferenza nel polmone, specie nelle pareti delle caverne, nel rene, dove è caratteristica nel glomerulo di *Malpighi* e nel cervello degli spazi o guaine linfatiche perivasali. Negli altri organi il bacillo si mostra riunito a piccoli gruppi o isolato e nel centro dei focolai caseosi è sempre isolato e spesso pigmentato in nero od in giallo verdastro.

I casi di tubercolosi bovina da me studiati sono quattro e cioè tre vacche con tisi perlacea ed un vitello morto di polmonite caseosa al quinto mese dalla nascita.

Tanto nei tessuti della vacca, quanto in quelli del vitello le forme morfologiche che ho potuto riscontrare, specialmente nel polmone e nelle glandole linfatiche si possono ridurre alle seguenti:

1° bacilli corti, lisci, uniformemente colorati dalla fuxina carbolica;

2° bacilli a rosario, sia semplici, sia con un rigonfiamento ad un estremo o con rigonfiamenti in ambo le estremità;

3° bacilli corti composti di due soli granuli (forme diplobacillari);

4° bacilli ramificati, con gemmazioni laterali, con divisioni terminali dicotomiche;

5° bacilli filamentosi sia lisci e colorati uniformemente, sia a rosario;

6° forme granulari grandi e piccole, sferiche ed ovalari, alcune gemmanti;

7° forme bacillari a clava, a manubrio, a racchetta;

8° bacilli colorati in nerastro.

Le forme a racchetta, a manubrio e quelle granulari, si riscontrano a preferenza nelle glandole linfatiche.

L'aggruppamento dei bacilli segue presso a poco le modalità già descritte per la tubercolosi umana.

Nei tessuti dei polli e particolarmente nel polmone, fegato ed ovaio ho potuto mettere in evidenza queste forme:

1° bacilli lisci, sottili, diritti o leggermente curvi, piccoli, uniformemente colorati;

2° bacilli a rosario lunghi e corti, semplici e con rigonfiamenti centrali o terminali;

3° bacilli composti di due grossi granuli germinali fortemente colorati;

4° forme ramificate e gemmanti;

5° forme a manubrio;

6° granuli piccolissimi e granuli di maggiore grandezza, sparsi od aggruppati.

Fra le modalità dell'aggruppamento, oltre quelle comuni al bac

tubercolare umano e bovino, se ne riscontra una a grossi e piccoli globi ovali, sferici, irregolari, costituiti da ammassi di micoplasma più pallidamente colorato che tiene cementati cumuli di bacilli piccolissimi.

Sicchè, riassumendo, tutti e tre questi bacilli presentano nei tessuti un classico pleomorfismo, ma mentre questo è più spiccato nei bacilli della tubercolosi aviaria studiati in cultura, le forme più strane nei tessuti ce le fa vedere il bacillo della tubercolosi umana.

Queste strane ed anormali modalità di forma e di sviluppo del bacillo in questi tre tipi di tubercolosi ed anche nelle varie manifestazioni del tifo umano, e ci fanno sospettare che il bacillo di *Koch* non sia uno schizomiceto puro e semplice, ma qualche cosa d'intermedio tra gli schizomiceti e gl' ifomiceti, se pure in origine non sia stato un ifomiceto diventato patogeno in successive generazioni, con mutati caratteri morfologici. È anche verosimile che spesso il microrganismo, per speciali condizioni fisico-chimiche degli organi e dei tessuti nei quali si localizza o dei terreni di cultura artificiali, riprenda le forme ataviche.

Conchiudendo, l'identità tra i tre bacilli nei tessuti umani, nei bovini e negli aviari è, per quanto riguarda le forme morfologiche, assoluta, le differenze strutturali minime che si possono riscontrare non hanno grande valore. E mettendo in rapporto questa identità morfologica coi fatti sperimentali e clinici che possediamo numerosi in sostegno dell' unicità delle tre forme di tubercolosi, siamo autorizzati a ritenere che il bacillo tubercolare umano, il bovino e l'aviario siano varietà accidentali di una stessa forma microbica.

Adunanza pomeridiana del 5 Ottobre.

Presiede il Prof. **GOLGI.**

FOÀ CARLO. — Sull' iperglobulia sull'alta montagna.

L'O. espone il resultato di alcune sue ricerche eseguite sul Monte Rosa e viene alla conclusione che l'iperglobulia dell'alta montagna non è reale ma apparente, cioè soltanto periferica e non interessante tutta la massa sanguigna.

Infatti, mentre si nota l'aumento di corpuscoli rossi nel sangue preso dai capillari cutanei dell'uomo, o dalle vene dell'orecchio del coniglio, l'iperglobulia manca invece nel sangue dei grossi tronchi arteriosi. L'O. non riscontrò all'esame istologico forme di globuli rossi diverse dalle normali, nè globuli nucleati, nè eritrociti giovani o granuli eritrofili. All'opinione del *Grawitz* che l'iperglobulia sia dovuta ad un inspessimento del sangue in causa della maggior perdita d'acqua per la superficie polmonare, l'A. oppone il risultato di alcune sue espe-

rienze che dimostrano come l'uomo non esala nell'aria rarefatta maggior quantità di vapor d'acqua che nell'aria a pressione ordinaria. Altre ricerche dell'O. dimostrarono che il ritornare alla norma del sangue quando l'individuo ridiscende al piano, non è accompagnato da aumento nell'eliminazione dell'urobilina, nè a deposito di pigmenti ematici nel fegato, nella milza, nel midollo delle ossa. Questo fa escludere che vi sia al ritorno al piano una distruzione di quei corpuscoli rossi che secondo alcuni autori si sarebbero formati in alta montagna.

Da tutte queste ricerche l'O. conclude che l'iperglobulia è soltanto apparente, dovuta a deficiente circolazione periferica in causa della diminuita pressione arteriosa.

Discussione.

MONTI. I resultati di *Foà* collimano con quelli ottenuti dall'O. alcuni anni sono (1895). Non trovò globuli rossi nucleati; trovò aumento dei globuli rossi (*Thoma-Zeiss*) e di emoglobina (cromocitometro *Bizzozzero*). Trovò che l'aumento di globuli rossi e di emoglobina era molto diverso nei due individui sottoposti alla ricerca, notevole nell'uno meno robusto e meno abituato alla montagna, minimo nell'altro più vigoroso ed abituato alla montagna per il prolungato soggiorno sopra i 2000 metri. Questa osservazione viene in appoggio della interpretazione data dal *Foà*. Chiede a questo se ebbe a fare osservazioni analoghe, e se ha potuto accertare la anormale distribuzione del sangue negli animali, estraendo il sangue dagli organi interni con espedienti adatti ad evitare il ristabilimento dell'equilibrio di pressione.

FOÀ. Effettivamente anche l'O. ebbe a notare differenze individuali notevoli fra le persone abituate alla montagna e quelle non allenate. Infatti il guardiano della capanna R. Margherita, presentava una insignificante iperglobulia.

Queste variazioni individuali coincidono con differenze nei disturbi circolatorii e nello stato del cuore. L'O. trasse la conseguenza che si tratti di iperglobulia periferica soltanto, appunto dall'esame comparato del sangue periferico e del sangue estratto dalla carotide senza legare l'arteria per non alterarvi la circolazione.

MORPURGO. Osserva che la presenza dei globuli rossi nucleati nel sangue di animali salassati non ha luogo nelle prime ore dopo il salasso. Ciò conforta l'osservazione di *Foà*, contraria all'opinione di *Gaule*, di globuli rossi nucleati nel sangue d'individui che si sono rapidamente elevati.

MARCHIAFAVA E. — Sulla sclerosi dell'arterie coronarie del cuore.

L'accurata osservazione di molti casi a lui occorsi, nei quali l'alterazione dell'arterie coronarie rappresentava l'unica causa di un

morte avvenuta in compendio, ha permesso all'A. di riunire questi casi nei cinque gruppi seguenti:

I. Sclerosi semplice dell'arterie coronarie senza gravi alterazioni del miocardio, la quale può dare una morte improvvisa tanto in individui che già soffrivano di attacchi di asma cardiaco notturno o di *angina pectoris*, come nel 1° caso riferito dall'A., quanto durante un primo attacco anginoso, come nel 2° caso di questa serie.

II. Sclerosi dell'arterie coronarie con lesioni acute o croniche del miocardio, ad esempio della quale alterazione l'O. porta un caso interessantissimo di *apoplexia cordis*, analogo a quello riferito dal *Cruveilhier* nella sua anatomia patologica. Il detto caso riguarda un uomo di 65 anni morto all'improvviso mentre usciva dall'ospedale ove aveva subito la riduzione di un'ernia.

Alla necroscopia fu riscontrata una sclerosi dell'arteria coronaria sinistra, marcata specialmente nel terzo inferiore del suo ramo discendente, e la presenza di numerose cavità emorragiche della grandezza circa di un grosso pisello nella parete del ventricolo sinistro. La causa di queste emorragie multiple era da ricercarsi nella diminuita resistenza dei rami arteriosi alterati, alcuni dei quali si erano rotti, forse in ciò favoriti dall'eccitamento cardiaco determinato dall'ansia dell'operazione.

III. Stenosi gravissima degli orifici delle arterie coronarie senza o con lieve sclerosi delle stesse con o senza lesioni del miocardio. Ordinariamente, anche nei casi più gravi di lesione del tratto ascendente dell'aorta, gli orifici delle coronarie sono rispettati; ma in qualche caso è possibile trovare questi orifici (e il fatto si ripete con maggior frequenza per gli orifici dell'arterie intercostali) fortemente ristretti da placche biancastre, madreperlacee, rilevate sull'intima del caso. Anche in questi casi è possibile avere una morte improvvisa talvolta nel pieno benessere, talvolta preceduta da un periodo di patimenti dal lato del cuore. In quest'ultimo caso più spesso che quando la morte avviene nel pieno benessere, alla stenosi delle coronarie possono andare associate lesioni degenerative e necrotiche nel muscolo cardiaco, le quali però possono anche mancare.

IV. Obliterazioni antiche di un'arteria coronaria con o senza lesioni del miocardio. A proposito di questa alterazione l'O. riferisce un caso riguardante un uomo di 48 anni, muratore, il quale aveva lavorato fino ad 1 mese $^1/_2$ prima del suo ingresso nell'ospedale. Colpito in quell'epoca da affanno e da tosse, si decise in ultimo a ricoverarsi nell'ospedale, ove furono riscontrati enfisema polmonare e catarro bronchiale diffuso, con rialzi termici alla sera, ed edemi agli arti inferiori; la punta del cuore batteva nel 6° spazio intercostale, ma nulla di speciale si rilevava all'ascoltazione. Morto improvvisamente dopo pochi giorni di degenza, alla necroscopia, oltre l'enfisema, la bronchite diffusa ecc., fu riscontrata un'endoaortite nodosa prevalente nel tratto ascendente e nell'arco con

obliterazione dell'orificio dell'arteria coronaria destra; l'esame microscopico del miocardio non rivelò nessun fatto regressivo, nè nodi di miocardite sclerotica, in nessun punto della parete del ventricolo destro, la quale anzi era ipertrofica a causa dell'infisema. La mancanca di alterazioni del miocardio e la sua ipertrofia provano che nel territorio della coronaria obliterata la circolazione era mantenuta, ossia che si era dovuta svolgere una circolazione collaterale da parte dell'altra coronaria.

Le ricerche fatte su cuori normali non hanno dato risultati concordi circa la presenza di anastomosi fra i rami delle coronarie; meriterebbe però che queste ricerche venissero ripetute nei casi analoghi a quello surriferito; onde stabilire il modo di origine della circolazione collaterale. In ogni modo il comportamento del cuore nelle stenosi gravi o nelle obliterazioni delle coronarie, prodottesi lentamente, ricordano quanto avviene nella obliterazione lenta delle arterie mesenteriche. È noto infatti che, mentre l'occlusione improvvisa di una mesenterica è causa di lesioni gravissime dell'intestino e di morte, invece se l'occlusione si è svolta lentamente, manca qualsiasi lesione nel territorio intestinale e peritoneale corrispondente, perchè dall'altra arteria mesenterica ha avuto tempo di stabilirsi un circolo collaterale completo.

V. Obliterazione acuta del tronco o di un ramo grosso delle arterie coronarie con infarto anemico o con miomalacia con o senza rottura del cuore. Appartengono a questo gruppo i casi di trombosi rapidamente formatasi e di embolia delle coronarie, e l'O. ne riferisce due nei quali la trombosi della coronaria si svolse nel corso di una malattia infettiva. Il primo caso riguarda un uomo di 55 anni, che da qualche tempo soffriva di attacchi di *angina pectoris*, e morto con segni di insufficienza cardiaca nel 6° giorno di una polmonite. Alla necroscopia fu riscontrato un infarto anemico, che occupava la parte superiore della parete del ventricolo sinistro e la parte inferiore dell'orecchietta corrispondente, causato da una trombosi recente del ramo circonflesso della coronaria sinistra molto sclerotica. In un' altro individuo di 60 anni, morto dopo improvviso aggravamento, mentre era degente all'ospedale per un processo bronco-pneumonico, l'O. riscontrò nella metà inferiore della parete anteriore del ventricolo sinistro un infarto in parte anemico, in parte emorragico con miomalacia e cardiorexi, dipendente da trombosi recente della metà inferiore del ramo discendente della coronaria sinistra sclerotica. Questi due casi dimostrano che fra le complicazioni cardiache della polmonite oltre quelle fin'ora note, devesi aggiungere anche la trombosi delle arterie coronarie già sclerotiche. Il primo caso inoltre dimostra, che contrariamente a ciò che avviene nelle esperienze su animali, non sempre nell'uomo all'occlusione acuta di una delle c ronarie o di un grosso tronco di queste, segue istantaneamente la mort poichè la presenza di un infarto bianco di necrosi coagulativa prova ch tra la occlusione del vaso e la morte era interceduto un certo tempo

DIONISI A. — Sull'induramento polmonare consecutivo a polmonite cruposa. (Con dimostrazione di preparati).

Anche nei trattati più recenti di Anatomia Patologica la polmonite interstiziale cronica, fibrosa o produttiva è definita come l'infiammazione cronica della impalcatura connettivale del polmone, per la quale si forma un tessuto di granulazione che più tardi diventa connettivo denso, invadente e sostituente il parenchima polmonare.

Dal punto di vista genetico si distinguono due modalità di questo processo: una prima nella quale il processo proliferativo pleurogeno colpisce i grossi setti connettivali dello stroma del polmone, il connettivo peribronchiale e perivascolare e il connettivo interlobulare, e una seconda nella quale la proliferazione si verifica a carico dei setti più sottili e del connettivo interalveolare.

In questa seconda maniera di origine della polmonite cronica la proliferazione è sempre secondaria ad alterazioni pregresse del parenchima polmonare, tra le quali principali sono: la polmonite fibrinosa e l'atelettasia.

Si ammette quindi che tanto la neoformazione connettivale che sostituisce il parenchima polmonare attelettasico, come quella endoalveolare, endoinfundibulare ed endobroncheolare che sostituisce l'essudato cruposo, abbiano la stessa origine, provengano cioè da proliferazione del connettivo interstiziale.

Ora, si può chiaramente dimostrare coll'osservazione delle fasi iniziali di questo processo, che la neoformazione connettivale, *consecutiva a polmonite cruposa*, ha origine assolutamente diversa, come da alcuni autori è stato sostenuto.

Avendo avuto occasione di poter studiare un numero notevole di casi di questa forma di polmonite cronica, ho avuto agio di controllare quanto è stato sostenuto e di mettere in rilievo alcune particolarità, che possono essere utilizzate per spiegare l'origine della neoformazione connettivale e renderci conto della patogenesi di questo processo.

La forma anatomica di questa alterazione è nota. Macroscopicamente nessuno ha dato una descrizione più esatta di quelle fornite da *Marchand* e da *Marchiafava*, quasi contemporaneamente alle quali si riportano tutti. La superficie di sezione di un polmone che presenta questa alterazione nello stadio iniziale si distingue poco pel colore da quello che presenta l'epatizzazione grigia; la consistenza è aumentata: invano si cerca di penetrare col dito nel tessuto, ciò che riesce facilmente nell'epatizzazione grigia; la superficie di sezione appare granulosa, ma meno chiaramente che nell'epatizzazione recente; si ha l'impressione che le masse contenute negli acini polmonari siano intimamente connesse con la parete dei medesimi, e di ciò si resta convinti

ancora di più strisciando sulla superficie stessa il coltello, col quale si ottiene solo un liquido leggermente torbido e nessun granulo mescolato al liquido.

A questo aspetto macroscopico corrisponde tipicamente il seguente reperto microscopico. Negli alveoli polmonari sono contenute ancora masse compatte di fili di fibrina, secondo alcuni, come *Kahlden*, più spesse che nella comune polmonite cruposa, giudizio come si intende, che non è facile di fare. Tali masse sono impiantate talora con base larga, qualche volta con base stretta come un filo sulla parete alveolare. In alcune sezioni frequentemente si vedono fili di fibrina attraversare la parete alveolare per i porocanali di *Cohn*, senza contrarvi alcun rapporto e continuarsi nel reticolo fibrinoso, contenuto nell'alveolo vicino.

Negli stessi polmoni si trovano dei punti, nei quali la fibrina è raccolta nel centro degli alveoli, senza contrarre alcuna aderenza con la parete.

Questo comportamento delle masse fibrinose dentro gli alveoli, è costante, si può dire, nella maggior parte delle polmoniti ed è uno dei fatti più notevoli che si opponga a concepire come l'esito in indurammento si verifichi solo in polmoniti peculiari fin dall'inizio, come vorrebbero sostenere alcuni (*Clark*).

Gli elementi cellulari, che insieme con la fibrina formano il contenuto dell'alveolo, variano di qualità e quantità secondo i punti.

In alcuni si trovano globuli rossi, leucociti polinucleati, mononucleati e con nucleo lobato. Tra questi elementi i più rari sono i globuli rossi, che appaiono solo in pochi alveoli: il più gran numero di cellule invece, è rappresentato da piccole cellule rotonde con protoplasma poco distinto e con nucleo rotondeggiante per lo più frammentato e spesso ricco di cromatina, intensamente colorato: queste sono diffuse in tutto l'alveolo.

Si notano pure cellule rotonde più grosse con protoplasma ben colorato chiaramente granuloso e nucleo piccolo eccentrico unico rotondo, ricco di cromatina.

Oltre questi elementi si trovano grosse cellule con protoplasma fibrillare, debolmente colorato e con grande nucleo povero di cromatina, spesso così debolmente colorato, che si differenzia dal protoplasma solo per la membrana. Queste cellule si trovano spesso in più file, disposte sulla parete degli alveoli, spesso anche isolate, frequentemente contengono pigmenti e si riconoscono come cellule epiteliali.

Quindi nelle fasi meno avanzate del processo di induramento, il contenuto degli alveoli è costituito da masse più o meno compatte di fili di fibrina, nelle quali sono impigliati elementi cellulari, cioè leucociti polinucleati, cellule mononucleate, piccole e grandi con nucleo ricco di cromatina, intensamente colorato e con protoplasma nelle prime poco colorato, nelle seconde ben colorato e nettamente granuloso.

Oltre a questi elementi, negli alveoli sono contenute cellule epiteliali desquamate in via di regressione.

Se noi paragoniamo il contenuto degli alveoli in questo stadio del processo col contenuto degli alveoli nei varii stadi della polmonite cruposa, vedremo che appaiono nell'essudato come elementi insoliti le cellule mononucleate grandi e piccole, queste in numero maggiore. Si nota cioè la presenza di quelle cellule rotonde mononucleate, che sono in parte considerate come leucociti mononucleati del sangue, in parte come cellule migratrici istiogene, o in altri termini, come fibroblasti embrionali.

Sono quelli stessi elementi che si veggono comparire già poche ore dopo l'introduzione di corpi estranei nel connettivo e che, stando alle accurate ricerche di *Maximow* sulla infiammazione, provengono in piccola parte dalle piccole cellule rotonde migratrici del connettivo, dai clasmatociti e dalle cellule avventiziali dei vasi sanguigni, per la maggior parte invece, rappresantano leucociti mononucleati, emigrati dai vasi sanguigni.

Queste cellule, come nelle infiammazioni sperimentali, una volta comparse nel campo infiammato, non periscono come i leucociti polinucleati. Esse danno prova di grande vitalità, emigrando nell'interno del corpo straniero, in parte rimanendo nella sua capsula e agendo come energici fagociti, come si può rilevare dalla ricchezza delle granulazioni, che contengono. Si distinguono dai fibroblasti giovani per l'aspetto speciale del nucleo e per la struttura concentrica del corpo cellulare.

La comparsa di questi elementi nel reticolo fibrinoso caratterizza l'inizio del processo d'induramento polmonare. È importante tener conto di un dato di fatto, che cioè tra il contenuto dell'alveolo e la parete dell'alveolo stesso, rimane uno spazio libero, e che, qualche volta, numerose cellule epiteliati rivestono già la parete degli alveoli.

Quando il processo è più progredito, la fibrina si vede riunita nel centro dell'alveolo e alla periferia di essa si trovano i fibroblasti. Perciò nei casi della durata di 15 giorni il processo è caratterizzato dalla presenza di poliblasti nelle maglie e alla periferia del reticolo fibrinoso, poi dalla riduzione della quantità di fibrina che rimane solo nel centro dello alveolo e dalla comparsa di cellule fusate alla periferia della massa fibrinosa: non di rado insieme alle cellule fusate occorre di trovare anche cellule giganti del tipo di quelle da corpi stranieri (*Hansemann*). L'epitelio alveolare è rappresentato da una o più file irregolari di epitelio poliedrico, rigonfio, per lo più in via di degenerazione.

Quando il processo è più avanzato, di fibrina non si trova più traccia e il lume alveolare e spesso tutto l'infundibolo è occupato da una neoformazione connettivale polipiforme, che alle volte rimane libera nel lume alveolare senza contrarre aderenze colle pareti; altre volte si fonde con le pareti alveolari in maniera che queste non sono più distinguibili. Quando la neoformazione connettivale è ben sviluppata si vede solcata

da capillari sanguigni. Non di rado accade di poter seguire il passaggio di fini gettoni di cellule fusate da un alveolo all'altro, tanto da ottenere come delle figure di orologio a polvere, analogamente a quanto accade delle masse di fibrina nella polmonite acuta, che attraversano i porocanali di *Cohn*. A questo reperto microscopico corrispondono alterazioni macroscopiche caratteristiche della così detta *carnificatio pulmonis*, cioè la superficie di taglio è levigata, splendente, di color grigiastro roseo, sparsa di punti migliarici di color bianco grigiastro splendente o giallastro opaco.

Tutto lo svolgimento del processo fa l'impressione come se il contenuto fibrinoso degli alveoli malati fosse disciolto con una certa difficoltà e che la neoformazione endoalveolare adempisse a questo compito, sostituendo gradatamente e completamente le masse di fili fibrinosi.

Le pareti alveolari non prendono da principio, almeno per quanto è dato vedere, parte attiva del processo, anzi fin dall'inizio del processo stesso, sono in molti casi parzialmente rivestite da epiteli: tra gli elementi connettivali che le costituiscono non si veggono mai figure cariocinetiche.

Oltre queste alterazioni che ci danno ragione dell'indurimento del parenchima polmonare, si trova quasi costantemente una vera polmonite desquamativa in alveoli vicini, nei quali non vi è la neoformazione connettivale. Fatto questo che deve intendersi come concomitante il processo d'induramento, e non come vorrebbe il *Galdi*, in una recentissima pubblicazione, come un processo speciale da meritare persino un battesimo proprio come quello di pneumonia desquamativa obliterans.

Queste brevemente sono le fasi principali del processo, l'inizio del quale è marcato dalla presenza dei poliblasti nel lume alveolare tra le masse dei fili fibrinosi e la fine da una neoformazione connettivale polipiforme, o aderente alla parete alveolare qualche volta notevolmente vascolarizzata tanto da render conto delle emottisi che non di rado si verificano nei malati nei quali si ha questo esito della polmonite.

Dati questi fatti, s'intende come a prima vista non offra grandi difficoltà la patogenesi di questo processo. Sappiamo specialmente per le ricerche di *Ribbert* che il riassorbimento degli essudati di qualunque specie come dei corpi estranei è effettuato dapprima dai leucociti polinucleati e poi da elementi connettivali; i leucociti polinucleati hanno solo limitata capacità di inglobare e di trasportare piccoli corpi stranieri o anche grosse masse molli come per es. il grasso e tale capacità è anche di breve durata: quindi data una massa fibrinosa tale che i leucociti polinucleati non siano capaci di digerire, sarebbe spiegato l'intervento degli elementi connettivali.

Però non è dimostrato che l'essudazione fibrinosa che si verifi nelle polmoniti, che hanno questo esito, sia diversa per intensità quella che si forma nella polmonite cruposa, che non ha tale esito, m grado la durata qualche volta considerevole della malattia.

Mi pare quindi più ragionevole ammettere che anzichè dalla difficoltà di digerire una quantità insolita di fibrina, l'ostacolo alla guarigione possa essere determinato dai fattori varii e diversi secondo i casi.

Innanzi tutto potrebbe verificarsi una insufficiente reazione midollare non proporzionale alla quantità di fibrina contenuta negli alveoli polmonari, determinata da modificazioni della capacità di reazione tanto per il numero scarso di produzione di leucociti, come per la loro capacità funzionale, questi essere poveri di fermenti digestivi.

In secondo luogo potrebbe, per ragioni non esattamente precisabili, aversi una maggiore persistenza dell'infezione diplococcica, come *Marchiafava* e *Guarnieri* avevano già notato per diminuita produzione della sostanza specifica batteriolitica pei diplococchi, che pare d'origine midollare e che ha tanto significato nella determinazione della guarigione.

In terzo luogo pur stabilendosi una reazione midollare efficace, questa potrebbe essere insufficiente per altre localizzazioni dell'infezione diplococcica oltrechè nel polmone anche in altri organi. — Perciò momento importante per lo stabilirsi di questo processo si dovrebbe considerare l'insufficienza midollare.

In appoggio di questa opinione le osservazioni compiute specialmente da *Marchiafava* e le mie ulteriori corrispondono perfettamente. Così si può in genere affermare che tale esito si verifica a preferenza in individui deperiti da pregresse infezioni, tra le quali una delle più comuni presso noi l'infezione malarica, che spiega in molti casi la gravità veramente notevole delle polmoniti, e bisogna tener pure conto delle nefriti qualche volta con degenerazioni amiloide dei reni, delle cardiopatie che accompagnano questo esito della polmonite.

Le associazioni a questo esito in induramento di pleurite essudativa siero fibrinosa e purulenta, di ascesso polmonare e di gangrena polmonare endocardite e meningite sono state pure da me osservate con una certa costanza, e *Marchiafava* vi aveva richiamata l'attenzione pel primo fin dal 1882.

Che in tali casi si possa verificare un'insufficienza midollare assoluta o relativa ai bisogni dell'organismo non mi pare che si possa mettere in dubbio.

Ammessa così una deficienza di numero o di funzione dei leucociti si capisce la persistenza dell'essudato fibrinoso nel lume alveolare. La persistenza dell'infezione è dimostrata oltrechè dalla febbre che accompagna questo esito della polmonite, a me pare, pure dalle notevoli alterazioni che dimostrano gli epiteli alveolari, che anche dove non è contenuta la neoformazione connettivale offrono alterazioni notevoli, rigonfiamento, desquamazione, necrosi e successiva ialinosi.

Lo stimolo quindi alla neoformazione connettivale dipenderebbe in parte dalla persistenza dell'essudato, persistenza insolita, anche se non

di lunga durata, e dall'insufficienza dei leucociti a farlo scomparire e in parte dalla persistenza dell'infezione attenuata, d'accordo in questo con quanto *Foà* e *Bordoni-Uffreduzzi* sostengono.

Quanto all' origine della neoformazione connettivale, a me pare che una parte importante nel decorso di tutto il processo infiammatorio abbiano le speciali cellule che *Maximow* raggruppa sotto la denominazione di poliblasti, che, secondo lui, rappresentano leucociti mononucleati, emigrati dai vasi sanguigni, linfociti che si possono trasformare in connettivo. Solo quando la giovane neoformazione poliblastica si è bene sviluppata fino a raggiungere le pareti alveolari, è da queste che partono vasi neoformati dagli elementi endoteliali dei vasi preesistenti. Se ulteriormente anche la parete alveolare prende parte al processo d'induramento sembra verosimile. Perciò secondo me alla neoformazione endo-alveolare partecipano in un certo stadio prevalentemente i poliblasti, e la parete alveolare solo secondariamente per mezzo degli elementi connettivali che la costituiscono prende parte alla neoformazione connettivale e con propagini dei propri vasi la vascolarizza. Di guisa che nello stadio finale del processo, alla neoformazione connettivale può prender parte la parete alveolare.

Mi sembra quindi che dal punto di vista patogenetico l'induramento polmonare consecutivo a polmonite debba essere distinto dal gruppo delle polmoniti interstiziali croniche, giacchè la partecipazione del tessuto di sostegno non è dimostrata nello svolgimento del processo.

Le conclusioni alle quali mi conducono le mie osservazioni sono le seguenti:

1° La neoformazione connettivale endo-alveolare pare che sia il risultato della trasformazione dei poliblasti in elementi connettivali, rimanendo così esclusa nella neoformazione iniziale la parete alveolare la quale solo nei casi molto avanzati partecipa al processo con la neoformazione di vasi sanguigni.

2° Come momenti patogenetici di questo esito dell'induramento devono esser presi in considerazione specialmente la insufficiente reazione midollare nel riassorbimento dell'essudato, e la persistenza dell'infezione provata dalla febbre che accompagna questo esito della polmonite e dalla polmonite desquamativa che si associa costantemente all'induramento.

DIONISI. — Sulla degenerazione policistica dei polmoni. (Con dimostrazione di pezzi anatomici e preparati).

Nell'adulto come reperto raro e accidentale sono descritte bronchiectasie atelettasiche nei lobi inferiori, raramente nei superiori. Tal atelettasie possono trovare ragione in un arresto di sviluppo e sono sempre molto limitate.

A me è occorso di studiare per cortesia del prof. *Marchiafava* e del prof. *Bastianelli* che mi hanno fornito il materiale, due casi di formazioni cistiche diffuse nel parenchima dei due polmoni, in modo da giustificare il ravvicinamento di questa alterazione a quella che va sotto il nome di degenerazione cistica bilaterale dei reni congenita e di fegato cistico congenito.

Del caso occorso al prof. *Marchiafava*, posso presentare i pezzi nei quali sono ancora visibili le alterazioni singolari anche macroscopicamente.

Si trattava di un giovinetto di 19 anni che da parecchio tempo soffriva di tosse, affanno e leggera cianosi, qualche volta anche di sudori notturni.

Il giorno 30 dicembre dell'anno scorso ammalò con febbre, affanno e dolore alla mammella destra. L'infermo aveva sputo rugginoso e all'esame obbiettivo si rilevava ottusità nella fossa sotto spinosa destra con respiro aspro e rantoli crepitanti: la temperatura oscillò tra 38,5 e 39,1 e si mantenne così fino al 5 gennaio, nel quale giorno con un rapido abbassamento della temperatura e con fenomeni d'insufficienza cardiaca l'infermo morì.

All'autopsia si constatò pleurite fibrinosa destra con bronchite e tracheite acuta. Il polmone sinistro presentava la pleura ispessita. Alla sezione del polmone destro si notava ineguaglianza della superficie di taglio, dovuta alla presenza di un sistema di cavità di grandezza variabile d'aspetto alveolare, che procedendo dall'alto al basso si rimpiccolivano e diminuivano di numero.

Nel lobo inferiore la superficie di taglio assumeva un aspetto finamente alveolare, simile a quello della glandola tiroide, specialmente alla periferia del polmone, che in tali parti non era antracotico.

Nell'apice del polmone sinistro si vedeva la superficie di taglio ineguale come quella del polmone destro per la presenza di vescicole di grandezza variabile da una lente a un cece, a una nocciola. Nel resto della superficie di sezione si rinvenivano anche numerose vescichette come nel polmone destro. Il tessuto polmonare nelle parti ove non si vedono vescicole è notevolmente aumentato di consistenza, come nell'induramento bruno. Corrispondentemente a questa alterazione dei due polmoni si notava ipertrofia con dilatazione del ventricolo destro. L'esame microscopico dei due polmoni permette di costatare accanto a tratti di parenchima polmonare enfisematico, come è dimostrato dall'ampiezza abnorme degli alveoli, e a tratti di parenchima polmonare sano dei tratti nei quali alla struttura polmonare si vede sostituita una struttura tubolare: tuboli di varie dimensioni alle volte aggruppati come a costituire degli acini rivestiti da epitelio per lo più cilindrico mono stratificato, si sostituiscono al parenchima polmonare normale. Alcuni tuboli sono ripieni di essudato leucocitario come gruppi di alveoli di un polmone nor-

male, avendo essi preso parte al processo di bronco polmonite, del quale si constata l'esistenza nel resto del polmone, altri sono ripieni di epitelio rigonfio desquamato e qualche volta ialinizzato.

Lo stroma offre particolarità degne di nota: esso è abbondante ed ha caratteri somigliantissimi con quello descritto da *Linser* nel caso di cisto adenoma del polmone da lui pubblicato, essendo rappresentato da elementi di connettivo giovane e da fibre muscolari liscie riunite in fasci con decorso irregolare. Qualche volta queste si veggono intorno ai tuboli rivestiti da epitelio cilindrico. Il tessuto elastico della parete degli alveoli e dei tuboli è disposto come normalmente.

Il disordine della muscolatura liscia e le altre qualità dello stroma depongono per un'anomalia di sviluppo.

L'altro caso che si riferiva a un uomo di media età offre le stesse particolarità di struttura costatate nel primo: la sola differenza è nella maggiore vascolarizzazione dello stroma che è solcato da numerosi vasi sanguigni.

Se noi paragoniamo le alterazioni del rene cistico congenito con quelle rinvenute nei polmoni, troveremo una grande analogia con quelle ora descritte.

Tali alterazioni, come è noto, sono considerate come una forma speciale di cisti multiloculari, riferite recentemente a un processo neoplastico da *Nauwerk*, *Kahlden*, *Bormann*, e *Borst* e rientrano perciò nel gruppo delle neoformazioni adenomatose. E a me pare che anche nei casi da me studiati si possa sostenere questo concetto tenendo conto anche dei casi di *Linser* e di *Störk*, che mi pare utile di riferire.

Il caso di *Linser* pubblicato negli archivi di *Virchow* sotto il nome di adenoma congenito dei polmoni si riferisce a un giovinetto di 13 anni che era stato ricoverato nell'ospedale, perchè accusava un dolore nel lato sinistro del torace che egli riferiva ad una caduta. Durante la degenza nell'ospedale si era notata dapprima una lieve riduzione di suono nella metà inferiore della parete laterale del torace sinistro, notevole ottusità superiormente e ottusità assoluta nella regione clavicolare. L'infermo aveva lieve tosse ed espettorazione sanguinolenta. In seguito l'ottusità divenne assoluta in tutto l'ambito del polmone sinistro, apparvero sintomi di paralisi della corda vocale sinistra, scoliosi della colonna vertebrale; la dispnea divenne notevolissima e l'infermo morì dopo due mesi di degenza. All'autopsia si constatò la presenza di un tumore nel cavo toracico sinistro, che occupava tutta la cavità pleurica corrispondente e la regione del mediastino fino al giugulo. Tal tumore ricacciava in basso il polmone sinistro, spostava il cuore a destra verso la linea mediana, aveva una forma rotonda allungata col maggio diametro parallelo alla lunghezza dell'asse del corpo. La sua superfic era d'aspetto nodulare bernoccoluta, il suo tessuto molle di colore bru giallastro in alcune parti, in altre rossastro, cogli organi prossimi e

solo aderente. La sua irrorazione sanguigna era fatta dall'arteria bronchiale.

Il reperto microscopico dimostrava una struttura lobulare, lo stroma era così ricco di nuclei che si poteva considerare come sarcomatoso: nei lobuli accanto a piccole isole cartilaginee e fasci di muscolatura liscia si vedevano spazi cavi epiteliali, a mo' di glandole tubulari cistiche rivestite da uno o più strati di epitelio cilindrico e raramente con epitelio piatto. Alcuni canali glandolari erano ramificati e assumevano la forma di un acino polmonare. *Linser* esclude che il tumore possa essere provenuto dal timo, perchè di quest'ultimo alla sezione non fu trovata alcuna traccia ed ammette per i caratteri dell'epitelio dei tuboli che provenga dal polmone, o meglio, da residui di parenchima polmonare, arrestato nei primi stadi di sviluppo. A fondamento di questa opinione, egli invoca i caratteri dell'epitelio dei tuboli glandolari e quelli dello stroma, trovando che l'epitelio di rivestimento dei tuboli corrisponde all'epitelio dei polmoni fetali e il forte sviluppo dello stroma s'accorda completamente con quello dei primissimi stadi di sviluppo dei polmoni.

Quanto al posto da assegnare al tumore da lui descritto, egli trova molte analogie del caso studiato cogli adenomi dei reni e gli adenomi dei testicoli, e quindi lo pone tra gli adenomi con carattere sarcomatoso, a causa del forte sviluppo dello stroma e del rapido sviluppo del tumore.

Il caso di *Störk* si riferisce a un feto estratto con embriotomia, nel quale oltre l'idrope della pelle e delle cavità, si notò la presenza di un tumore della grandezza di uovo di pollo che occupava la cavità destra della pleura, comprimeva il lobo superiore ed inferiore del polmone destro, comprimeva la cava e l'atrio destro. Il parenchima del polmone non mostrava nulla di abnorme.

Coll'esame microscopico, il tumore si mostrò costituito da spazi cavi che ricordavano alveoli di un polmone enfisematico: però a differenza degli alveoli di un polmone normale, gli spazi cavi erano ricoperti da un epitelio di superficie cilindrico cubico in un solo strato, che si trovava direttamente sul tessuto di sostegno, oppure era separato da questo, da strati di musculatura liscia di spessore diverso.

In alcuni punti l'epitelio si appiattiva, fino ad assumere un aspetto endoteliale. Il tessuto dei setti constava di cellule con grossi nuclei dotate di fini prolungamenti. In molti punti si trovavano nei setti formazioni d'aspetto glandolare con stretto lume il cui rivestimento epiteliale corrispondeva in tutto ai grossi spazi cavi. Tra i fasci di fibre muscolari erano dimostrabili anche fibre elastiche.

Störk ritiene che la struttura del tumore si possa identificare con quella dei rami dell'albero bronchiale in un periodo fetale, e che con ogni verosimiglianza sia da riferire a una malformazione del ramo bronchiale medio. *Borst* cita questi due casi a proposito dei cisto-adenomi del polmone.

Come risulta dalla descrizione la struttura di questi adenomi corrisponde completamente a quella dei casi da me studiati. La differenza però è notevole nella forma anatomica grossolana e nello sviluppo che fa porre con sicurezza i due casi ora menzionati tra i tumori, mentre i casi da me studiati si ravvicinano anatomicamente ai reni policistici congeniti tanto che a me pare acconcio di denominare questa alterazione *degenerazione policistica dei polmoni probabilmente congenita.*

DIONISI A. — Sulla cistite e ureterite cistica.

La difficoltà di interpretazione di questo processo infiammatorio della vescica e dell' uretere, caratterizzato da formazioni cistiche diffuse, dipendono dal fatto che tanto nella vescica come nell'uretere non sono ammesse formazioni glandolari.

Per un certo tempo alle formazioni epiteliari descritte da *Brunn*, sia connesse colla mucosa che site profondamente nel connettivo sotto forma di nidi epiteliali, fu data importanza per la genesi delle cisti. Così la spiegazione data da *Lubarsch*, che per lo più le cisti si formano dai nidi epiteliali di *Brunn*, nei quali si stabilisce per l' infiammazione una distruzione delle cellule centrali e poi delle periferiche parve delle più verosimili. Però le ricerche di *Aschoff* riuscirono a far dubitare dell'esistenza di tali formazioni, e allora si immaginò dallo stesso *Aschoff* che la formazione delle cisti si dovesse mettere in rapporto con una proliferazione di fini setti connettivali che passerebbero a ponte sulla mucosa. *Störk* trova la spiegazione delle formazioni delle cisti in ripiegamenti della mucosa vescicale in seguito a infiammazione cronica.

I tentativi di *Kahlden* e di *Pisenti* per dimostrare che fossero cisti parassitarie non furono ritenuti abbastanza dimostrativi.

Lo studio di 3 casi che ho avuto occasione di osservare mi hanno condotto a conchiudere che si tratti di neoformazioni adenomatose infiammatorie, analoghe a quelle che si verificano nella mammella, nella mastite, nel fegato, nei reni, nell' intestino, e che subiscono la degenerazione colloide a prevalenza prima nel centro della neoformazione, e poi nelle parti periferiche.

Se tali neoformazioni adenomatose trovino ragione in lievi disturbi di sviluppo, è difficile di provare.

La ricchezza di forme di cellule epiteliali tanto nella mucosa vescicale che in quella degli ureteri, dà ragione del vario contenuto delle cisti, che qualche volta può far pensare alla presenza di forme parassitarie che non è possibile dimostrare con sicurezza.

BARBACCI O. — Sull' ureterite cistica.

Da uno studio molto accurato, sotto il punto di vista etiologico, un caso di ureterite cistica, l'A. è portato a negare qualsiasi importanz

all'elemento infettivo nella determinazione del processo morboso. Egli lo crede legato assai intimamente ai processi irritativi cronici della mucosa ureterale e riguarda le cisti come cisti da disfacimento, prendenti il loro punto di origine dai così detti nidi di *von Brunn*, la cui presenza non è costante nella mucosa ureterale, come diversamente abbondante è ne' varii individui il loro numero, ciò che può sufficientemente spiegare come non ogni processo irritativo cronico della mucosa porti necessariamente alla formazione di cisti.

Discussione.

DIONISI. Dice che la differenza fra il suo modo d'interpretare questa alterazione patologica e quello del prof. *Barbacci*, consiste nel fatto che il *Barbacci* ammette l'esistenza degli elementi di *von Brun* mentre egli non gli ammette.

BARBACCI. Si è appoggiato alle ricerche del *Marckwald* che ha esaminati 700 ureteri e dice di aver trovati questi elementi anche in neonati.

NAZARI A. — Alterazioni renali nella tetania gastrica.

La tetania è una malattia che solo di rado conduce a morte i pazienti, onde sono relativamente poche le autopsie conosciute. Il maggior numero di queste si riferisce alla tetania dei bambini, una minima parte alla tetania degli adulti e alla così detta tetania gastrica. Nelle loro ricerche anatomo-patologiche gli autori si sono di preferenza occupati delle alterazioni del sistema nervoso centrale e periferico, e per la tetania gastrica, delle alterazioni della muccosa dello stomaco; mentre manca generalmente nei loro reperti la descrizione particolareggiata di eventuali alterazioni a carico di altri organi, che si possano considerare in rapporto più o meno diretto colla tetania. Riguardo alle alterazioni renali è solo assai vagamente accennato in alcuni casi alla presenza di alterazioni parenchimatose o di una vera nefrite. Ho avuto occasione di studiare due casi di grave tetania gastrica: il primo nell'ágosto del 1896 in una ragazza di 21 anni, cucitrice, la quale da molto tempo aveva presentato i sintomi di un'ulcera gastrica, ai quali erano succeduti quelli di una stenosi pilorica con enorme gastrectasia. Durante la degenza nell'ospedale l'inferma ebbe attacchi tipici di tetania, in uno dei quali morì.

Il secondo caso mi occorse nel maggio del 1902 in un uomo di 33 anni, contadino, gastro-paziente da 3 anni, il quale venne ricoverato nell'ospedale durante un grave attacco di tetania, che ebbe la durata di mezz'ora circa. Nel giorno seguente si manifestò un nuovo attacco, durante il quale l'infermo morì. Le urine contenevano in questo ultimo caso traccie d'albumina.

All'autopsia si trovò in entrambi i casi, oltre le alterazioni a carico dello stomaco consistenti in un'enorme gastrectasia da stenosi cicatriziale del piloro per ulceri semplici pregresse, una notevole iperemia dei reni, la cui sostanza corticale presentava la superficie di taglio cosparsa di numerosi punti e di sottili strie di colorito biancastro. Per questo aspetto si poteva già macroscopicamente fare la diagnosi di infiltrazione calcare, diagnosi che venne subito confermata coll'esame microscopico di sezioni ottenute per congelazione. Aggiungendo a questo dell'acido cloridrico si ottenne la scomparsa delle deposizioni con sviluppo di gaz; aggiungendo invece dell'acido solforico se ne ottenne egualmente la scomparsa, ma accompagnata dalla formazione dei caratteristici cristalli aciformi di solfato di calce.

Nei preparati fissati in sublimato e in alcool assoluto, inclusi in paraffina e colorati con vari metodi, mi sono studiato di dare un'esatta localizzazione dell'infiltrazione calcarea, e ho trovato che questa aveva sede nei tuboli contorti di 2° ordine o pezzi intercalari, specialmente nel punto in cui si accollano al corrispondente glomerulo malpighiano e nelle anse di *Henle*, specialmente nella branca ascendente di queste. Una tale localizzazione corrisponde esattamente a quella descritta da *Ribbert* per la degenerazione grassa, e ha probabilmente il valore di una legge, nel senso che le parti suddette presenterebbero una resistenza minore verso le cause nocive, sia per condizioni speciali di circolo, come suppone *Ribbert* basandosi sulle ricerche di *Puricelli*, sia per altre cagioni non determinate. Gli epiteli dei tuboli calcificati presentavano alterazioni assai avanzate fino alla necrosi e alla loro totale scomparsa. I sali calcari avevano generalmente la forma di sferule di varia grandezza alcune delle quali con una evidente striatura concentrica, in altri punti invece apparivano come granuli o come incrostazioni amorfe. Il rimanente del rene si presentava alterato non in modo diffuso, ma a chiazze, specialmente nella parte più periferica della corteccia e nei fasci dei tuboli retti della corteccia stessa. Gli epiteli dei tuboli di queste parti erano alterati in grado minore, mentre le alterazioni erano specialmente a carico del connettivo interstiziale, e consistevano in una ricca infiltrazione cellulare particolarmente manifesta attorno alle parti calcificate. Una parte dei glomeruli malpighiani era del tutto normale mentre un'altra parte, specialmente in vicinanza della cortex corticis, presentava alterazioni di grado vario dall'aumento dei nuclei e dalla riduzione e scomparsa della cavità capsulare fino ad essere convertiti in blocchetti di connettivo a lato dei quali era quasi sempre riconoscibile il tubolo di 2° ordine calcificato, la cui presenza in alcuni punti di ricca proliferazione cellulare era il solo indice della preesistenza di un glomeru malpighiano. Tutte le alterazioni renali avevano in entrambi i miei c caratteri identici, solo nel primo caso erano alquanto più avanzate, s cie la calcificazione. Negli altri organi e nel sistema nervoso centr-

e periferico non ho trovato alterazioni degne di nota. Nè ho riscontrata la calcificazione dei piccoli vasi del cervello e del cervelletto descritta da *Pick* in tre casi di tetania. Quest'autore, d'accordo con un precedente lavoro di *Gierke*, il quale ha trovato che certe forme di calcificazione, anche del cervello sano, sono caratterizzate da ciò che si tratta della calcificazione di un albuminato di ferro, ha ottenuto che le sferule e le incrostazioni calcari dei vasellini cerebrali davano in uno dei suoi casi una bella colorazione bleu di Berlino. Io ho ripetute le reazioni sulle calcificazioni renali ma con resultato completamente negativo, sia col ferrocianuro di potassio e acido cloridrico, sia col solfuro d'ammonio.

La calcificazione dei tuboli uriniferi, che presuppone alterazioni necrotiche degli epiteli, è stata ripetutamente descritta nelle forme più svariate di intossicazioni e di avvelenamenti ai quali mi piace di aggiungere come osservazione personale l'avvelenamento da funghi. In un uomo di 28 anni, morto in seguito a tale avvelenamento, trovai accanto a gravi alterazioni parenchimatose del rene, un'estesa calcificazione, che era parimente localizzata nei tuboli contorti di secondo ordine e nelle anse di *Henle*.

L'aver trovata in due casi di tetania gastrica la descritta infiltrazione calcare dei tuboli uriniferi con identici caratteri mi sembra un argomento di una certa importanza in favore dell'origine tossica di tale affezione, opinione nella quale oggi conviene la maggior parte degli autori, ma che manca ancora della prova diretta, consistente nel trovare la sostanza nociva nel sangue e di produrre con questa sostanza negli animali fenomeni analoghi alla tetania.

Mi sembra infine che le descritte alterazioni renali non siano da trascurarsi nella interpretazione dei sintomi della tetania gastrica.

LEVI DELLA VIDA MARCO. — Sui sieri tossici specifici per le capsule surrenali.

Per le conoscenze che si hanno oggidì sulla embriologia, l'anatomia comparata e l'anatomia microscopica, normale e patologica, delle capsule surrenali, il prof. *Vassale* ha espresso l'opinione che nella funzione surrenale si devono distinguere due funzioni l'una corticale, l'altra midollare. Le osservazioni che egli ha potuto fare nel diverso modo di azione degli estratti delle due sostanze, e le esperienze sue e del dott. *Zanfrognini* sulla ablazione della sola sostanza midollare lo hanno confermato in questa convinzione.

Le mie ricerche personali hanno avuto per compito di portare un contributo a questo modo affatto nuovo di considerare le capsule surrenali cercando di ottenere per mezzo di sieri citolitici specifici, la distruzione di una sola della due parti che la costituiscono.

In seguito agli studi iniziati nel 1898 e quindi alacremente proseguiti, sopra il siero d'un animale trattato con iniezioni di sangue eterogeneo, siero che acquista proprietà tossiche verso i globuli rossi di quegli animali che hanno fornito il sangue (sieri emolitici), si è cercato, preparando gli animali, invece che con sangue con estratto di organi, di ottenere sieri citolitici per i diversi organi e tessuti; si sono così avuti dei sieri tossici per gli spermatozoi, per la sostanza nervosa, per le cellule renali, epatiche, pancreatiche, per la tiroide, il cuore, le capsule surrenali e così via.

Dalle osservazioni di quasi tutti gli autori e malgrado le opinioni recentemente manifestate da alcuni, si può ritenere che i vari sieri citolitici o citotossici abbiano proprietà specifiche verso l'organismo per il quale sono stati preparati, e fino ad un certo punto, anche verso l'animale della specie di quello che ha fornito l'estratto di cui ci siamo serviti per la loro preparazione.

Io ho voluto, praticando delle iniezioni di sola sostanza corticale o di sola sostanza midollare di capsule surrenali di cavie a cani e ad anitre, studiare il siero fornitomi da questi animali: prendendo il punto di partenza dal concetto che ove fosse possibile provare l'esistenza di due sieri separatamente tossici per le due sostanze, si sarebbe autorizzati a concludere da una parte in favore della specificità dei sieri citotossici, e dall'altra della individualità delle due parti che costituiscono le capsule surrenali.

Studiando *in vitro* le proprietà acquistate dal siero degli animali preparati, ho potuto constatare che il siero di quelli iniettati con estratto di sostanza corticale possedeva una proprietà citolitica per la sola sostanza corticale delle capsule di cavie, come poteva dimostrarlo l'esame microscopico di capsule tenute per 12 h. immerse nel siero. I nuclei specialmente si mostravano alterati (diffusamente colorati, picnotici, numerose le figure di cromatolisi, cariolici e carioressi). Il protoplasma spesso appariva vacuolizzato; molte cellule erano deformate, rimpiccolite, atrofiche.

Nelle capsule tenute per lo stesso tempo nel siero di animali preparati con la sostanza midollare, ho constatato alterazioni localizzate in questa sostanza: scomparsa di molti elementi dei cordoni cellulari, alterazioni regressive nelle cellule conservate.

Si può quindi parlare di due sieri distinti, corticosurrenotossico il primo, midollosurrenotossico il secondo.

Ho voluto accertarmi con prova *in vitro* se l'azione citolitica di questi due sieri non si esercitasse anche su altri organi e l'esperienz è riuscita del tutto negativa.

I due sieri riscaldati per $^1/_2$ ora ad una temperatura di + 55° + 6 perdono ogni loro azione citolitica.

Ho studiato l'azione *in vivo* dei due sieri ottenuti: le iniezioni d

siero midollosurrenotossico alle cavie ne hanno sempre provocato la morte, senza una sintomatologia speciale ed in tempo vario, ma sempre con uguale reperto anatomico. L'esame microscopico delle capsule surrenali ha dimostrato profonde alterazioni nella sostanza midollare quali ho assicurato nelle capsule trattate *in vitro* collo stesso siero; se la morte aveva seguito dopo poco tempo all'iniezione si è ottenuto nella sostanza corticale uno stato di congestione con forte dilatazione del reticolo capillare, e poi alterazioni nelle cellule interposte dovute alla compressione esercitata dai vasi turgici. Inoltre negli altri organi esaminati, fegato, milza, reni, cervello, è notevole la dilatazione vasale, mentre in alcuni (reni e fegato) si riscontrano anche alterazioni cellulari degenerative, ad essa conseguenti.

Non mi pare azzardata l'ipotesi che questa dilatazione vasale, comune a tutti gli organi, possa essere interpetrata come conseguenza di una diminuita o mancata funzione della sostanza midollare.

Le iniezioni di siero corticosurrenotossico non hanno mai causato la morte degli animali inoculati.

I sieri cortico- e midollosurrenotossico possiedono anche un certo grado d'azione emolitica, maggiore nel primo che non nel secondo, come lo hanno dimostrato le esperienze *in vitro* e l'esame della milza degli animali inoculati.

L'esistenza di due sieri che sono specifici per l'una e per l'altra delle sostanze che con la loro unione formano le capsule surrenali, ci fornisce così una nuova dimostrazione della individualità completa, assoluta di queste due parti; e i risultati ottenuti dalla inoculazione del siero midollosurrenotossico ci permette di inferire la prevalenza della sostanza midollare sulla corticale nella completa funzione delle capsule surrenali.

FOÀ PIO. — Sui sieri citotossici e sull' attività degli organi ematopoetici. (Nota preliminare).

L'A. ha confermato l'idea di *Metschnikoff*, che sieri debolmente tossici sono dei sieri eccitanti la produzione di quegli elementi che sarebbero destinati a distruggere.

L'A. ottenne sieri linfotossici coi quali ha prodotto un grande eccitamento produttivo di linfociti nell'apparato linfatico di alcuni animali. Esso era caratterizzato da un numero grandissimo di figure cariocinetiche nei centri germinali dei follicoli. Produsse inoltre un siero leucotossico ed emolitico insieme colle iniezioni ripetute di emulsioni di midollo delle ossa di coniglio nella cavia, ed ebbe da quelli effetti rapidi di modificazione del sangue circolante e del rispettivo midollo delle ossa. Il sangue presentava molti megalociti e una quantità ingente di globuli a granuli tingibili col rosso neutro, o globuli facilmente tingibili in toto con residuo di un corpo apparentemente reticolato colla miscela di *Guar-*

nieri e *Daddi*, o col liquido *Poggi*. Erano globuli giovanissimi versati in circolo dal midollo molto eccitato a funzionare dal siero iniettato. Il midollo presentava un'enorme quantità di eritroblasti di ogni grandezza e offriva megacariociti grossi con la emissione periferica di una frangia in cui venivano impigliati i leucociti polimorfi piccoli in via di mortificazione. Infine nel midollo erano molti mielociti mononucleati dal cui protoplasma colorato col liquido di *Pappenheim* (pironina + verde di metile) si emettevano dei blocchetti, come delle gocciole di varia grossezza e forma, di sostanza basofila.

Questo è forse un indizio di grande attività nutritiva dei predetti elementi. Reperti simili l'A. ha ottenuto nelle cellule splenicho di cavia assoggettate sistematicamente a salassi, oppure a ripetute iniezioni di estratti acquosi di *bacillus coli*. In quest'ultimo caso le milze contenevano inoltre molti megacariociti ed erano sempre ematopoetiche. È probabile che l'origine prima della così detta trasformazione mieloide della polpa splenica sia sempre un fatto mielocinetico a cui si è sovrapposta la proliferazione degli elementi midollari depositati nella polpa splenica. Però la questione non è tanto facile a risolversi in modo assoluto per tutti i casi. L'acquisto di molto protoplasma basofilo e l'emissione di particelle dello stesso è indizio di sovranutrizione e di eccitamento funzionale. La sostanza staccatasi dalla periferia della cellula sembra destinata ad essere senz'altro eliminata o distrutta.

Discussione.

NEGRI ricorda il risultato delle sue ricerche su questo argomento. Da queste risulta che le stesse formazioni, le stesse immagini che si ottengono colorando i globuli rossi con il rosso neutro, si possono avere con il bleu di metilene. È lieto di aggiungere che le ricerche condotte sui globuli rossi nucleati dei vertebrovipari, sono di perfetta conferma alla ipotesi avanzata del prof. *Foà*, che cioè la sostanza cromatofila sia indice dell'età del globulo.

MORPURGO riferisce che in esperienze iniziate dal proprio assistente dott. *Donati* col confronto del sangue della vena nutritizia della tibia con quello periferico, risultò evidentemente maggiore il numero dei globuli con granuli tingibili col rosso neutrale nel primo sangue. Fatto questo che appoggia sempre più l'idea della natura giovanile dei globuli con granuli.

Adunanza antimeridiana del 6 Ottobre.

Presiede il Prof. **GUARNIERI.**

Barbacci O. a nome di **TAROZZI G.**, riferisce **Su di una forma speciale di aneurisma dell'arteria splenica in dipendenza di un elastoma della parete arteriosa.**

Alla necroscopia di una donna di 45 anni, morta in seguito ad un carcinoma dello stomaco, si trovò, non sospettato in vita, un aneurisma sacciforme dell'arteria splenica.

In nessun punto dell'albero circolatorio si trovarono lesioni arterio-sclerotiche o di altra natura da potersi collegare colla formazione dell'aneurisma. Questi ha forma rotondeggiante, e raggiunge per grandezza quella di una noce avellana all'incirca. Per la sua massima parte era affondato nello spessore del pancreas, ove si era scavata una specie di nicchia, ed era facilmente enucleabile dal tessuto circostante.

Il sacco aneurismatico si presentava di consistenza dura, come calcificato.

Aperto si trovò che conteneva del sangue non coagulato, e comunicava col lume dell'arteria splenica per un orifizio ovalare, lungo circa $^1/_2$ cm. il cui asse maggiore era parallelamente disposto all'asse del vaso.

La sua superficie interna era liscia e levigata, come quella del vaso con cui comunicava.

Alla sezione del pezzo le parti si trovano considerevolmente spesse, ed in esse sono nettamente riconoscibili i tre strati di cui sono formate, i quali si continuano con quelli corrispondenti della parte del vaso. Solo la media è molto atrofizzata, mentre l'intima, fortemente ipertrofica, ove più, ove meno spessa, forma da sola la maggior parte della parete. Lo strato endoteliale è presente su quasi tutta la superficie interna del sacco.

Il processo di calcificazione è più specialmente localizzato agli strati esterni dell'intima, ma si estende in diversi punti anche alla media. Più che di una calcificazione avvenuta per precipitazione di sali di calce sopra tessuti previamente necrotizzati, ha carattere di una calcificazione osteoidea.

L'avventizia contiene numerosi vasi, le cui pareti non sono sede di speciali alterazioni, e che si spingono, attraversando la media, fin nello spessore dell'intima ipertrofica.

Le sezioni condotte sulla parte della parete del vaso non aneurismatica, e corrispondente all'orifizio del sacco vi dimostrano la presenza di una particolare alterazione, caratterizzata da un' abbondante neoformazione di sostanza elastica, sotto forma sia di grandi lamine di elastina

accartocciate, sia di depositi informi di tale sostanza di aspetto prevalentemente granulare.

Questa neoproduzione giace in seno ad una piccola zona della parete il cui tessuto è formato di elementi cellulari o stellati o fusiformi, provvisti di un nucleo grande rotondo o leggermente ovolare. Essa è compresa interamente nello spessore della tunica media, e verso l'interno del vaso occupa anche la parte corrispondente all'intima.

La neoproduzione elastica è nettamente circoscritta in questa zona. Alcune delle cellule di cui è formata contengono nell'interno od alla periferia della loro zona protoplasmatica granuli di elastina; la massima parte però dei depositi granulari o fibrillari sono contenuti negli spazî intercellulari. Non può esser dubbio che la presenza abnorme di elastina è in dipendenza della funzione elastogena di queste cellule così anormalmente accumulatesi in un punto della parete del vaso. E questo accumulo deve probabilmente collegarsi ad un vizio nella formazione della parete del vaso, per il quale si determinò una sproporzione nella normale distribuzione delle cellule elastogene, per cui quella parte dove queste facevano difetto gradatamente cedette alla pressione sanguigna, dilatandosi.

La mancanza di ogni influenza degenerativa spiega la valida iperplasia compensativa dell'intima, la quale aveva portato il sacco ad una condizione di stabilità, compatibile, almeno fino ad ora, con il continuarsi della funzionalità del vaso.

Barbacci O. a nome di **TAROZZI G.**, riferisce **Su di una speciale varietà di blastomicete patogeno coltivato da un caso di leucemia.**

Nel coniglio e nella cavia questo blastomicete determina delle modificazioni molto spiccate dell'apparato linfatico e spesso anche della milza; questa e le glandule linfatiche possono raggiungere volume addirittura enorme: fortemente compromesso si presenta anche l'apparato linfatico intestinale specie nelle infezioni per la via del tubo digerente. L'A. mostra alla Società molti pezzi anatomici in conferma del suo asserto e si riserba di far noti ulteriormente i reperti istologici ed ematologici al pari di tutto quanto riguarda la biologia del blastomicete. Egli ha creduto interessante di richiamare l'attenzione fin da ora sulle lesioni degli organi linfatici e della milza, perchè esse spessissimo si consociano ad un aumento così spiccato de' globuli bianchi del sangue da sorpassare di gran lunga i limiti delle comuni leucocitosi per toccare da vicino (almeno per ciò che è proporzione numerica) quelli della vera leucemia.

Discussione.

FOÀ P. domanda alcuni schiarimenti sulla qualità dei globuli bianchi che concorrono a dare la leucocitosi negli animali in esperimento.

BARBACCI. Non essendo terminate le ricerche in proposito, non può dare schiarimenti.

Barbacci O. a nome di **FERRARINI G.** riferisce su **Ricerche sulla guaribilità anatomica e funzionale delle lesioni renali.**

Punto di partenza di queste ricerche è stata l'osservazione clinica corrente che mentre vi sono nefriti, le quali, una volta passate a guarigione, non lasciano alcuna vulnerabilità speciale dell'organo, ve ne sono altre, nelle quali la guarigione non rappresenta che un equilibrio funzionale estremamente instabile dell'organo, che la minima causa può giungere a turbare. In questi ultimi casi è supponibile che lo stato di speciale vulnerabilità del rene abbia la sua ragione di essere in una difettosa evoluzione del processo riparativo, in conseguenza del quale gli elementi neoformati si mostrano sensibili all'azione di cause incapaci di turbare la retta funzionalità di elementi perfettamente normali. Trovare un fondamento anatomico a questa ipotesi è stato lo scopo fondamentale delle ricerche dell'autore.

Come oggetto di studio egli ha scelto la forma più semplice della nefrite, quella che succede all'ischemia temporanea del rene, sia per avere un processo indipendente da qualsiasi influenza del generale dell'organismo sulla funzione renale, sia precipuamente per potere in uno stesso animale confrontare gli effetti di una data azione nociva su di un rene preventivamente alterato e su di uno completamente normale. Fu per prima cosa studiata l'evoluzione delle lesioni renali che conseguono all'ischemia temporanea, accompagnando il processo fino alla completa *restitutio ad integrum* dell'organo e fu visto (in una serie di 44 conigli): 1° che dopo l'ischemia si ha nel rene un processo necrobiotico diffuso che interessa *tutti* gli elementi costitutivi della glandula; 2° che a questo segue rapidamente un processo infiammatorio, in conseguenza del quale si stabilisce nella glandula un classico processo di nefrite: insorgono numerose cariocinesi e in ultimo si arriva alla guarigione della lesione: questa però è completa solo dopo un tempo molto lungo, che può approssimativamente fissarsi a 10 giorni per un'ischemia di $^1/_2$ ora, a trenta giorni per quella di un'ora.

Questo stabilito, in un'altra serie di 79 conigli, fu ricercato se le cellule neoformate, che avevano dato la riparazione anatomica della glandula, si mostrassero quanto le normali resistenti all'azione di un agente tossico o infettivo. Prodotta una nefrite unilaterale per mezzo della ischemia temporanea, in secondo tempo e a distanza sempre maggiore dell'operazione, furono iniettate dosi modiche di preparati di cantaride e di tossina difterica e furono in comparazione studiate le lesioni del rene preventivamente ischemizzato e del rene sano. I resultati di questa seconda serie di ricerche furono oltremodo discordi, poichè mentre gruppi di conigli mostrarono di risentire molto a lungo l'influenza dell'atto operativo, di aver cioè il rene ischemizzato e già riparato fornito di cellule meno resistenti all'azione dell'agente morboso, altri invece mostrarono di avere i due reni egualmente resistenti, pur non essendo

talvolta il rene ischemizzato, ancora giunto alla completa riparazione anatomica della lesione primitiva.

Poteva forse pensarsi che questa variabilità di resultati tenesse a condizioni accidentali, in dipendenza dell'atto operativo e cioè o ad una influenza che i nervi variamente lesi nelle manovre fatte per ischemizzare il rene, avessero nel decorso del processo riparativo, oppure ad una varia influenza da parte della capsula fibrosa che trovavasi sempre inspessita per un processo infiammatorio perirenale. Nuove ricerche furono perciò condotte per elucidare questi punti.

In 12 conigli il plesso renale veniva leso ne'più svariati modi e certo sempre più profondamente di quanto lo potesse accidentalmente essere durante le manovre, per produrre l'ischemia temporanea: queste ricerche dimostrarono nel modo il più evidente che in ciascuna guisa poteva invocarsi una lesione varia da caso a caso del plesso renale per interpetrare i resultati avuti nella precedente serie di ricerche.

Per quel che riguarda la capsula è noto come, per recenti ipotesi sulla sua presunta inestendibilità, si voglia ad essa fare rappresentare una parte importante ne'disturbi idraulici che accompagnano i processi di nefrite, d'onde alcuni chirurghi traggono l'indicazione di un intervento operatorio in questa lesione renale. In 32 conigli fu asportata la capsula di un rene e prima, durante e dopo l'operazione, fu prodotta una nefrite o colla cantaride o colla tossina difterica: dopo un periodo di tempo variamente e sufficientemente lungo, l'animale fu ucciso e vennero comparativamente studiate le condizioni de'suoi reni. I resultati furono i seguenti: asportata la capsula ad un rene in pochissimi giorni se ne riforma un'altra che coll'andar del tempo si fa più robusta e più spessa del normale: tale capsula prende aderenza cogli organi circostanti, quali l'intestino, la milza e i muscoli dorso-lombari; in queste aderenze decorrono numerosi vasi, specialmente venosi, che si mettono in diretta comunicazione co' vasi del rene e costituiscono una vera rete vasale accessoria tra questo e gli organi circostanti; tali vasi non mostrano di avere alcuna importanza tanto per la funzione che la glandula sana può compiere, quanto se la glandula stessa è in preda ad un processo di nefrite sia acuta, che cronica, sia da veleni che da tossine; sia antecedente, che contemporanea o successiva; nessuna importanza del pari mostra avere la capsula sia che la nefrite succeda appena che essa è stata asportata, sia che avvenga quando essa è fortemente inspessita, sia che l'asportazione succeda mentre la nefrite è in piena evoluzione.

Queste ricerche, mentre da un lato parlano recisamente contro l'opportunità dell'intervento chirurgico ne' casi di vera e propria nefrite, escludono d'altra parte che a una lesione variamente intensa della capsu possano attribuirsi i discordi resultati della serie precedente di ricerc I quali perciò restano a dimostrare che vi sono casi ne' quali il rene u volta leso e riparato, rimane in uno stato di permanente predisposizio

a nuovamente ammalare, predisposizione che se in alcuni casi può essere attribuita ad un perturbamento che è avvenuto nel ricambio organico e che si è reso stabile, in altri certamente deve avere il suo fondamento in una irregolarità del processo riparatore, che sfugge ad ogni constatazione anatomica e per la quale le cellule renali che si riproducono e prendono il posto di quelle distrutte pure risentono per tutta la vita di una debolezza congenita e la trasmettono ai loro discendenti.

Discussione.

MORANDI chiede se si è tenuto conto della diversità di comportamento del connettivo nei reni in cui si provocava il processo infiammatorio essendo essi integri e in quelli in cui all'azione flogogena si faceva precedere un periodo ischemizzante.

BARBACCI risponde che si è tenuto conto di tutti i minimi fatti e che nulla autorizza ad ammettere un vario comportamento del connettivo nelle due condizioni.

BIONDI. — Ematuria da follicoli linfoidi della mucosa della pelvi renale. (Con dimostrazione di preparati e proiezioni microscopiche).

L'O. illustra il caso di una donna quarantenne affetta da ematuria renale. Questo fenomeno durava da 6 mesi, senza dolore, senza aumento di volume del rene, senza febbre e senza leucocitosi; si notava solo una marcata denutrizione accompagnata da anemia, ma gli organi citogeni in genere non presentavano alterazione di sorta.

Fu escluso che si trattasse di tubercolosi per mancanza di febbre e perchè fu negativo il reperto del bacillo di *Koch* nonchè l'inoculazione di orine negli animali; mancò infine la reazione alla tubercolina.

L'O. escluse il neoplasma per il mancato aumento del volume dell'organo e per la continuità dell'ematuria; escluse la calcolosi fra l'altro per l'assenza di coliche ed escluse inoltre l'ematuria, uricemica, emofilica e quella d'origine bulbare inclinando ad ammettere che si trattasse di un angioma della pelvi, analogamente ad altra osservazione a lui nota.

Saggiato lo stato funzionale dell'altro rene, riconosciuti inutili tutti i presidi medicinali, preoccupato dal tasso emometrico disceso a 35, l'O. si decise ad operare.

Il rene fu riscontrato di volume normale e fatto il taglio anatomico in sito si potè osservare alterata la mucosa della pelvi, il che decise l'O. alla nefrectomia con estirpazione a mezzo della torsione della porzione più alta dell'uretere.

L'ammalata non ha più avuto ematuria ed al momento (19 mesi dall'operazione) è prospera con eccellente nutrizione ed ematosi.

Dal rene estirpato furono fatte culture e non nacque alcun microrganismo e nemmeno ne furono messi in rilievo dalle comuni colorazioni.

La mucosa della pelvi renale e dell'alta porzione dell'uretere che presentava ad occhio nudo tante piccole sporgenze come grani di sagù, istologicamente dette il seguente repertò:

Epitelio di rivestimento in alcuni punti ben conservato, in altri necrotico, ed in altri mancante; mucosa e sottomucosa ricche di vasi, di tessuto àtogeno e follicoli linfoidi di varia grandezza perfettamente delimitati da guaine connettivali ed identici a follicoli intestinali del *Peyer*.

L'O. dinanzi a questa produzione abnorme di follicoli linfoidi, in mancanza di una spiegazione più plausibile, propende ad ammettere che si tratti di una aberrazione di quelli stessi germi embrionali che nelle condizioni ordinarie danno i follicoli del *Peyer*, tanto più che l'embriologia c'insegna che la pelvi renale a differenza del rene deriva dall'allantoide.

Discussione.

Su questa comunicazione prendono la parola i soci **FOÀ P.**, **CARBONE**, **CIRINCIONE**.

FERRARI E. (Trieste). — **Sulla periarterite nodosa.** (Con dimostrazione di preparati e proiezioni microscopiche).

L'A. dopo avere riassunto brevemente la sintomatologia ed il reperto macro- e microscopico di questa rara affezione, espone i risultati dei suoi studi in proposito, dai quali risulta che il processo non parte nè dall'avventizia nè dalla intima, come lo ammette la maggioranza degli autori, ma bensì da una degenerazione primitiva della muscolatura della media, la quale subisce un processo di necrobiosi con trasformazione ialina in massa. L'enorme accumulo di cellule nell'avventizia non segnerebbe altro che lo sviluppo di un tessuto di granulazione che dimostra spiccata tendenza di invadere la media necrotica e anche l'intima alterata. Egli mostra poi coll'apparato di proiezione due preparati microscopici molto caratteristici.

Discussione.

LUZZATTO A. domanda se il dott. *Ferrari* ha studiato nel suo caso se c'erano alterazioni dei centri nervosi.

FERRARI risponde che purtroppo ciò non fu possibile perchè prima del suo studio non si poteva immaginare di dovere eventualmente incolpare lesioni nervose quali cause di quest'affezione. Egli crede che facendo delle ricerche sperimentali in questo senso si potrebbe forse stabilire l'importanza o meno di lesioni nervose per quest'affezione.

PENDE N. — Le alterazioni delle capsule surrenali in seguito alla resezione dello splacnico ed all'estirpazione del plesso celiaco. (Con dimostrazione di preparati microscopici).

Pensando che un contributo, forse notevole, poteva esser portato alla tanto dibattuta ed oscura questione dei rapporti delle capsule surrenali col sistema nervoso, dal metodo della osservazione delle glandole, coll'esame delle alterazioni consecutive, io intrapresi, per consiglio del prof. *Bignami*, le presenti ricerche. Praticai, nei conigli, tanto la semplice resezione pel nervo splacnico di un lato, che la estirpazione parziale o totale del plesso celiaco, essendo queste designate dall'anatomia come le fonti precipue di fibre nervose afferenti alle capsule. Le alterazioni così ottenute si riferiscono a 2 distinti periodi: il 1° va dal momento dell'operazione ad un'epoca variabile da una a due settimane: in esso l'alterazione più costante è l'iperemia passiva della glandula, a cui, in via secondaria, e in proporzione del grado delle lesioni nervose, possono accompagnarsi edema diffuso, infiltrazioni emorragiche per rottura di capillari, distruzioni parziali del parenchima glandolare. Il 2° periodo comincia 3 mesi circa dopo l'atto operatorio, ed è caratterizzato da un'atrofia progressiva della glandula, atrofia che colpisce quasi esclusivamente, la sostanza midollare, le cui cellule presentano alterazioni gravissime, laddove le cellule corticali non appaiono sensibilmente modificate. Io ritengo questa atrofia della sostanza midollare delle capsule osservate come il resultato più importante delle mie ricerche. Esso dimostra la presenza nel nervo splacnico e nelle sue irradiazioni sul plesso celiaco, di nervi secretori delle capsule surrenali, nervi la cui influenza trofica è rilevabile, almeno con sicurezza, soltanto sulla sostanza midollare. Questo differente comportamento della sostanza midollare e della centrale rispetto alla lesione dei nervi, armonizza perfettamente con quanto si sa circa la genesi e la natura morfologica speciale delle cellule midollari che noi oggi consideriamo, dopo le belle ricerche di *Giacomini*, *Diamare*, *Kölliker*, *Dogiel* e altri, non già come cellule nervose speciali, bensì come vere cellule epiteliali secernenti d'origine neurale, le quali restano pertanto in connessioni strettissime col sistema simpatico; essendo d'altronde, proprio esse, e non le cellule corticali, destinate ad elaborare quel principio meravigliosamente attivo, cui il *Vassale*, uno dei più competenti sostenitori di questo fatto, ha posto il nome di paraganglina. Che l'atrofia poi delle cellule midollari sia una diretta conseguenza della mancata influenza nervosa, e non dei disturbi di circolo, ossia d'una stasi cronica, non v'ha dubbio alcuno: perchè le alterazioni vasomotorie non sono durevoli, e spariscono dopo un tempo breve (1° periodo delle alterazioni): mentre la detta atrofia compare assai più tardi, indipendentemente dalle alterazioni vasomotorie stesse.

È d'uopo quindi concludere per l'esistenza di nervi regolatori del trofismo indipendenti dai nervi regolatori del tono vasale, delle capsule surrenali. Ma nervi trofici di elementi glandolari non possono essere che nervi secretori: nello splancnico dunque e nel plesso celiaco, insieme coi nervi vasodilatatori delle capsule già dimostrati dal *Biedl*, e coi vasocoscrittori dimostrati da queste mie ricerche, e da quelle recenti pletismografie di *Laignel* e *Hallion*, decorrono anche i nervi secretori delle capsule surrenali, nervi che prima d'ora erano stati soltanto supposti.

Si potrà, in base a questi fatti, pensare che un'alterazione primitiva, sia pur funzionale, di questi nervi secretori, possa dar luogo a manifestazione di sintomi addisoniani, pur non essendo le capsule primariamente colpite? Nella letteratura medica esiste una osservazione di *von Furgens*, d'un morbo di *Addison* in cui, all'autopsia, fu riscontrato un aneurisma dell'aorta addominale che imbrigliava lo splacnico d'un lato, producendo atrofia della capsula surrenale corrispondente. Se questa osservazione, la quale collima perfettamente coi risultati delle mie ricerche, verrà confermata, la teoria nervosa del morbo di *Addison*, intesa nel senso da me sopra esposto, riceverà una base più sicura. Ma la presenza, nello splacnico, di nervi ad un tempo vasodilatatori, vasocostrittori e secretori delle capsule surrenali, ha permesso di dedurre altre considerazioni d'ordine fisiologico. Essa ci fa pensare all'esistenza d'una specie di autogoverno nella funzione di queste glandule, autogoverno che si compie per l'intermediario degli splacnici. Infatti, dato che, ad un certo momento, in condizioni fisiologiche o patologiche, una eccitazione delle fibre vasodilatatrici degli splancnici produca, per iperemia dei visceri addominali, un abbassamento della pressione sanguigna generale, noi possiamo ammettere che, alla stimolazione delle fibre vasodilatatrici delle capsule surrenali si accompagni quella delle fibre secretrici, decorrenti anch'esse negli splacnici; nel modo stesso che, nella corda del timpano, all'eccitazione dei nervi vasodilatatori, s'accompagna sempre quella dei secretori della glandula sottomascellare. Allora le capsule surrenali immetteranno in circolo una maggiore quantità del loro principio attivo vasocostrittore, il quale tenderà a riportare la pressione all'equilibrio normale: quando questo scopo è raggiunto, anche l'iperattività secretoria delle glandule si frena, in virtù dell'azione del loro stesso secreto su nervi vasocostrittori delle capsule, azione dimostrata dal *von Biedl:* e in tal modo l'autoregolazione è compiuta.

Questa è probabilmente una delle funzioni della sostanza midollare delle capsule surrenali: è questa dunque la parte più importante di tutta la glandola, e perciò la più riccamente innervata, e quella che risente maggiormente i danni della soppressione dei suoi rapporti col sistema nervoso.

Discussione.

FOÀ. Ha praticato una serie assai numerosa di estirpazioni del plesso solare nei conigli, ma ne ebbe risultati cotanto disparati che egli non ha potuto venire ad una conclusione sicura. L'A. si è persuaso che esistono troppe differenze individuali, e anche fra le due capsule di uno stesso individuo, per potere attribuire con sicurezza un determinato reperto ad una lesione provocata dal sistema nervoso. Inoltre è da ricordare che anche dopo l'estirpazione del plesso solare, rimangono nello spessore della capsula dei piccoli gangli nervosi che non offrono alcuna alterazione anche dopo molto tempo dall'operazione.

Quanto alla ipotesi che la sostanza capsulare corticale abbia un'azione sulla sfera genitale perchè la si trova ipertrofica e molto grassa nelle gravide, l'A. avverte che la gravidanza porta un esaltamento di tutte le funzioni, e si troverebbe nella gravida altrettanto sovrattiva l'ipofisi e la tiroide, il parenchima ovarico, ecc. ecc., onde non si può fermarsi alla capsula surrenale per stabilire un rapporto fra quelle e gli organi genitali. L'A. ha eseguite in proposito diverse ricerche sulla femmina e sul maschio dopo vario tempo dalla castrazione, ma non ha potuto riscontrare in proposito nessuna variazione attribuibile con sicurezza all'influenza dell'operazione.

Finalmente l'A. rileva l'importanza che ha la sostanza corticale della capsula, come organo di svelenamento del corpo.

ZANFROGNINI chiede al dott. *Pende* se egli abbia operato animali bilateralmente col suo metodo, parendogli che l'atrofia del paraganglio capsulare andando accompagnata a scomparsa della funzione determinerebbe in questi casi irrevocabilmente la morte degli animali, essendo probabile, per ricerche di *Vassale* e *Zanfrognini* che il restante tessuto cromaffine non prenda, anche per graduale distruzione del paraganglio surrenale, sufficiente sviluppo da impedire la morte degli animali.

PENDE risponde di non avere eseguite tali ricerche.

GUARNIERI (*Presidente*) informa che il prof. *Maffucci* essendo incomodato, si scusa di non potere intervenire.

BURCI propone, e il Congresso approva a unanimità, che si mandino al prof. *Maffucci* voti ed auguri di prossima guarigione.

PEPERE ringrazia a nome del suo Maestro e deposita alla Presidenza un Estratto della Memoria del prof. *Maffucci* del quale vengono lette le seguenti conclusioni:

MAFFUCCI. — Intorno all'azione del bacillo della tubercolosi umana, bovina ed aviaria nei bovini ed ovini.

Conclusioni. — Da tutte queste ricerche io posso venire per ora alle seguenti conclusioni:

I. Il bacillo della tubercolosi bovina è grandemente patogeno per gli stessi bovini.

II. Il bacillo della tubercolosi umana determina nei bovini una lesione transitoria, che guarisce, generando però disturbi trofici, che possono lentamente scomparire.

III. Il bovino è capace di abituarsi alle forti dosi dei bacilli virulenti della tubercolosi umana iniettati nelle vene.

IV. I prodotti tubercolari, provenienti dai cadaveri di uomini, ed innestati ai vitelli sotto la cute, hanno determinato una lesione, che restò sempre locale e con consecutiva guarigione della stessa, ciò che non è avvenuto colla tubercolosi bovina, la cui lesione si è resa progressiva per la via della cute all'intero organismo.

V. I vitelli iniettati nella vena con bacilli della tubercolosi umana, dopo otto mesi non hanno presentato traccia della infezione patita, dopo cinquanta giorni all'opposto si è riscontrato un tubercolo allo stato grigio miliare in tutto il polmone ed in fase regressiva.

VI. Il bacillo della tubercolosi umana può restare vivo nei tessuti di un vitello, se l'ascesso, che si forma, viene incapsulato.

VII. La tubercolosi di pollo è fortemente tossica per i vitelli, se viene iniettata nelle loro vene.

VIII. La reazione alla tubercolina (fatta con i bacilli di origine della tubercolosi umana) riesce positiva nei bovini ed ovini per svelare in essi la tubercolosi, umana, bovina e di pollo.

IX. Le pecore resistono alla tubercolosi umana meno dei vitelli, se i bacilli sono iniettati nelle vene; ma possono ancora guarire da detta infezione, e possono morire invece di setticemia tubercolare, se vengono innestate con la tubercolosi di pollo nelle vene e di tubercolosi infiltrata ancora con piccole dosi di bacilli della tubercolosi bovina iniettati pure nelle vene.

X. È possibile indurre nei bovini una refrattarietà verso la tubercolosi perlacea, se essi vengono preventivamente trattati con culture virulente di tubercolosi umana.

BONOME A. — Di una nuova localizzazione dell' influenza. Contributo alla patogenesi dell' atrofia acuta del fegato.

L'A. comunica i risultati di alcuni suoi studi sulla patogenesi di una forma di atrofia acuta del fegato non ancora osservata clinicamente nè anatomicamente nel corso dell'influenza e che egli ebbe occasione di incontrare in bambini di tenera età, nei quali non era presumibile esistessero in precedenza altre alterazioni. Innanzi di riferire i dettagli delle proprie ricerche che meglio farà per esteso in una prossima pubblicazione, l'A. ricorda come su questa malattia già molto si sia studiato, ma poco in sostanza si sia concluso, specialmente intorno alla sua essenza ed alla patogenesi.

La forma primitiva dell'atrofia gialla acuta nelle nostre regioni è

addirittura rarissima, specialmente se si prescinde da quei casi che qualche rara volta si verificano durante la gravidanza od il puerperio. Nell'età infantile non risulta sia stata mai osservata.

Quantunque venga dai più ammesso che questa grave alterazione, la quale conduce sempre all'esito letale, possa essere determinata da un insieme di circostanze e di cause diverse capaci di agire collettivamente sull' elemento epatico, producendone la rapida dissoluzione, si ignora tutt'ora quali siano queste circostanze o cause diverse, e come possano entrare in azione. Da alcuni osservatori è stata data importanza ad elementi bacterici patogeni che furono isolati dal fegato o dal sangue dei cadaveri di individui morti di atrofia acuta, oppure è stata data importanza a speciali veleni che si formano nell' organismo dai prodotti di disfacimento cellulare per opera dei bacterî, e che agirebbero a guisa di fermenti litici, digerendo la cellula epatica. Ma malgrado le interessanti conclusioni dei recenti studi di *Salkowsky* e di *Jacoby* sui fermenti litici del fegato abbiano aperto un nuovo campo d' indagine, non si sa ancora quale importanza debba attribuirsi alle variate specie di microfiti patogeni isolati nei singoli casi finora bene studiati di atrofia gialla acuta del fegato.

Ciò che è risultato finora dall'indagine bacteriologica si è che non esiste una vera unità eziologica di questo processo morboso.

Non si può tuttavia escludere che vi sia l'unità anatomo-istologica e che le condizioni per cui si produce la rapida autolisi delle cellule epatiche vengano ricondotte ad un unico meccanismo d'azione, per cui si potrebbe spiegare come il medesimo effetto si produca anche con elementi patogeni differenti.

Quale sia questo meccanismo d'azione patogena è molto difficile a stabilirsi, basandosi sui fatti fino ad oggi accertati. Per determinarlo con esattezza è necessario non solo conoscere a fondo il modo di comportarsi delle singole varietà bacteriche ritenute patogene sopra gli elementi dei vari tessuti, e le conseguenze relative al parenchima epatico, ma ancora è necessario essere edotti delle speciali condizioni in cui si trovava l'organismo al momento dell'invasione bacterica.

Seguendo le idee moderne sul meccanismo di azione di certe specie di bacterî patogeni (diplococco pneumonico) si sarebbe indotti a ritenere che l'azione patogena dei medesimi si esplica coll'intervento di certi veleni organici, i quali anzichè derivare direttamente dal ricambio dei bacteri come le comuni tossine che si formano nei mezzi artificiali di colture, cioè sopra della sostanza organica priva di vita ed in via di decomposizione, si producono nell'organismo vivente dell' animale infetto per una specie di scomposizione di certi elementi cellulari verso cui i bacteri manifestano un'affinità elettiva.

Questi veleni di secondaria formazione si comporterebbero come dei fermenti dissolventi alterando profondamente certe varietà di cellule.

D'altra parte è noto oggidì specialmente per opera degli importantissimi studi di *Bordet*, di *Ehrlich* e *Morgenroth*, *Landsteiner* ed altri, come alcuni veleni cellulari (citossine) si possono spontaneamente formare nell'organismo animale, anche senza l'intervento di bacterî patogeni, cioè per il semplice fatto dell'assorbimento di certi elementi istologici che non servono più ai tessuti di cui facevano parte, come ad esempio, di globuli rossi stravasati (emolisine) o di epitelî renali degenerati (nefrolisine) ecc. Parimenti è noto per gli studi di *Weichard*, *Opitz*, *Liepmann* ecc., che nel sangue delle donne in istato di gravidanza si trovano le così dette « sincizio-tossine » per effetto di assorbimento di elementi sinciziali, tossine che possono agire sui centri nervosi, sul fegato, sui reni.

Tutte queste cito-tossine od iso-lisine formatesi in condizioni speciali vengono in via fisiologica neutralizzate da degli anticorpi (agglutinine, precipitine, citotossine) che successivamente si formano nel siero. Questa neutralizzazione si effettua nella medesima maniera come l'antitossina difterica neutralizza in *corpore vivo* la tossina difterica. Orbene se questo equilibrio di neutralizzazione viene in qualche maniera rotto, per esempio dall'invasione di un bacterio che decomponga le antitossine, od attragga verso di sè, per difesa dell'organismo, quegli albuminoidi che funzionavano da antitossine, entrano in giuoco le azioni venefiche o citolitiche delle citotossine primitive, che non essendo più neutralizzate agiscono sui vari tessuti come sui reni, sul fegato, sui centri nervosi, per cui nelle gravide si può vedere comparire l'atrofia acuta del fegato, o certe necrosi a tipo emorragico.

Queste conoscenze che emergono da recenti studî costituiscono dei dati abbastanza serî per farci ritenere come l'influenza dei varî bacterî nella produzione di certe malattie, fra cui dell'atrofia acuta del fegato, possa esplicarsi in modo ben differente, e come bacteri di specie diversa siano in grado, date certe circostanze dell'organismo infetto, di produrre effetti simili od analoghi.

Volendo pertanto riassumere le modalità d'azione dei bacterî patogeni nella produzione della atrofia acuta del fegato, si può pensare a una duplice possibilità:

1° O si formano per opera dei bacteri che hanno invaso l'organismo degli speciali veleni cellulari o fermenti chimici, risultanti dal disfacimento di altre cellule, i quali trasportati al fegato agiscono alterando la funzione della cellula epatica e digerendola.

2° Oppure dei veleni cellulari, delle citotossine, preesistevano nel sangue all'invasione bacterica ed erano neutralizzati esattamente da degli anticorpi rispettivi e l'invasione bacterica rompendo quest'equilibrio di neutralizzazione ha favorito l'azione delle cito-tossine che hanno provocato l'epato-tisi.

Questo è forse il meccanismo d'azione per cui si può spiegare l'atro-

fia acuta del fegato che insorge nelle gravide o nelle puerpere in seguito ad una infezione qualsiasi e per le vie gastro-intestinali, o per la via uterina.

In ambedue i casi il bacterio non sarebbe che un intermediario. Ciò nondimeno non verrebbe a scemare la sua importanza patogenetica.

Premesse queste considerazioni, l'A. passa a riferire i risultati delle proprie osservazioni, ed a studiare il meccanismo d'azione del bacillo dell'influenza nella produzione della atrofia acuta del fegato. Tali osservazioni riguardano due casi di atrofia acuta del fegato verificatisi in forma primitiva in bambini di tenera età, l'uno di tre, l'altro di quattro anni e mezzo, i quali senza alcun precedente morboso rapidamente ammalarono in seguito a disordini dietetici presentando febbre elevata, diarree, leggera tumidezza dell'addome e sopore. A questi primi sintomi si associò verso la quarta giornata la comparsa dell'itterizia, che andò aggravandosi ed associandosi al coma, al quale tenne dietro l'esito. I due casi si susseguirono a breve distanza; i bambini provenivano da un rione della città ove non dominava alcuna epidemia. Soltanto nella stagione invernale aveva dominato l'influenza.

L'interesse che questi casi destarono anche dal lato clinico fu grandissimo, inquanto che la manifestazione dell'itterizia, l'albuminuria e lo stato soporoso portarono alla constatazione che il fegato si era notevolmente ridotto di volume. Rimaneva però sempre al clinico una profonda sorpresa per la novità della malattia in individui così giovani ed un'incognita assoluta era il momento patogenetico.

Dal reperto anatomo-istologico e bacteriologico si attendeva la luce, che nessuno poteva credere dimostrasse una forma d'influenza.

L'autopsia in ambedue i casi dimostrò come le maggiori alterazioni si trovassero nel fegato, che fu trovato molto ridotto di volume e di peso (300 gr. in un caso, 460 nell'altro), di consistenza uniformemente diminuita, a capsula raggrinzata, trasparente, e di colorito rosso-brunastro con tendenza al verdognolo — e con delle chiazze più scolorite. Lesioni meno avanzate si trovarono in un tratto verso il lobo destro. L'intestino nei due casi mostrava le note di un'infiammazione catarrale acuta, con lieve tumefazione dei follicoli. La milza di volume normale aveva polpa abbondante e scura. I reni erano itterici. Il sangue in gran parte liquido, nerastro.

Il reperto istologico del fegato ha rilevato già a piccolo ingrandimento come la struttura degli acini epatici fosse così profondamente alterata nelle zone ove il processo era più avanzato, che più non si riusciva a distinguerne la disposizione. Le cellule non erano più allineate in serie, ma disordinate, in gran parte mancanti o profondamente alterate e fra esse si trovavano degli ammassi di globuli rossi. Ad un'esame praticato con lenti a maggiore ingrandimento si notarono modificazioni di forma, di volume e rapporto fra le cellule, per effetto di un'estesa necrobiosi

degli elementi. Le cellule più vicine al limite dei capillari nelle zone ove il processo morboso era meno avanzato si cominciava a scorgere che il protoplasma assumeva un aspetto granuloso; poscia fra i granuli di disuguale grandezza comparivano dei vacuoli o degli spazî meno rifrangenti la luce — i nuclei divenivano poveri di cromatina, si spostavano verso la periferia e finivano collo scomparire.

Nei tratti di fegato ove l'atrofia era più avanzata, l'esame istologico a forte ingrandimento rilevava come le cellule non avevano più limiti netti, come contenessero anche dei granuli brunastri di pigmento biliare, e come perduto il nucleo gli elementi tendessero a disgregarsi. Si aveva insomma il reperto di una rapida e diffusa necrobiosi epatica, cioè *una epatolisi.*

Nei reni gli epitelî dei canalicoli contorti presentavano quelle alterazioni che sogliono osservarsi nel corso dell'itterizia: talune cellule cioè erano aumentate di volume, d'aspetto granuloso, con nucleo grande, pallido; altre e forse in maggior numero presentavano nel protoplasma dei vacuoli che tendevano a disorganizzare l'elemento. In alcuni canalicoli si trovarono delle concrezioni granulose simili a dei cilindri.

Il reperto istologico dimostrava adunque alterazioni di natura necrobiotica tanto nel fegato come nei reni, concomitanti a grave itterizia, e d'aspetto perfettamente simili a quelle che si riscontrano nell'atrofia acuta del fegato. Data la gravità delle lesioni e la loro estensione anche ai reni era a sospettarsi che l'elemento patogenetico potesse essere di natura infettiva o tossica.

Reperto bacteriologico. — Il reperto bacteriologico ottenuto mediante le colture allestite in vari mezzi nutritizî col parenchima epatico fresco, col sangue e colla polpa splenica confermarono la presenza di almeno due varietà di bacterî che erano da me già state vedute praticando un esame del succo epatico fresco su vetrini coprioggetti, adoperando una colorazione semplice colla fucsina *Ziehl.* Queste due varietà si svilupparono rapidamente specie nei mezzi liquidi (brodo siero) ed in quelli in cui era stato introdotto molto materiale. Negli agar lo sviluppo era scarso, limitato cioè soltanto attorno al materiale d'innesto sotto forma di minutissime colonie puntiformi, trasparenti, appena appena visibili ad occhio nudo, fra le quali se ne vedevano in minor numero delle più grandi, bianco-grigiastro opache.

Le colonie più piccole si poterono facilmente isolare subito, poichè in certi tratti della superficie seminata non vi erano che di quelle — le colonie più grandi si poterono isolare bene soltanto dalle colture in piastre che si fecero dopo.

Le prime risultarono costituite da dei bacilli piccolissimi, brevi e tozzi ad estremità arrotondate ed un po' meno spesse del centro, immobili, e raggruppati o in serie di due o in cumuli di otto-dieci disposti parallellamente. Si coloravano col metodo *Ziehl* più facilmente agli estremi che

non al centro, per cui talora assumevano l'aspetto di un diplococco. Si decoloravano col metodo di *Gram*. Le colonie più grandi grigiastre, opache e meno numerose erano costituite da un bacterio più grosso e lungo — mobilissimo, che resisteva meglio al trattamento col metodo di *Gram*.

Le prime colture impure — nelle quali però erano in grandissima prevalenza rappresentati i bacilli piccolissimi, corti e tozzi — riuscirono patogene per il coniglio e per la cavia. Si attenuarono però molto presto, cioè già alla quarta-quinta giornata, forse anche per l'eccesso di sviluppo preso dal bacterio grosso e mobile. Dal sangue e dal succo degli organi (milza) del coniglio si ottennero delle culture pure del bacillo breve, tozzo, immobile, decolorantesi col metodo di *Gram*. Tali culture in brodo siero ascitico, ed in agar risultarono fortemente patogene per i conigli e per le cavie. Se però venivano lasciate a sè qualche giorno sia entro che fuori del termostato si attenuavano rapidamente. Questo fatto, unito ai caratteri morfologici sopra accennati ingenerò all'A. il sospetto che il bacillo in quistione dovesse identificarsi con quello dell'Influenza. Per ciò furono subito allestite nuove colture sopra agar e brodi addizionati di sangue di piccione. Ed i risultati non potevano essere più convincenti e dimostrativi.

Dal complesso dei caratteri morfologici e biologici risultava adunque che il bacillo isolato dall'A. era identico al bacillo di *Pfeiffer* e che la grave malattia a localizzazioni epatica-intestinale verificatasi nei due bambini studiati dall'A. altro non era che una forma d'Influenza. Restava così una volta di più provato che non esiste l'unità eziologica nell'atrofia acuta del fegato, poichè accanto agli streptococchi, agli stafilococchi, al *bacterium coli*, può figurare anche il bacillo dell'Influenza.

Ma quale fosse l'importanza di questo bacillo nella determinazione di questa gravissima lesione epatica, e quale potesse essere il suo meccanismo d'azione era ancora cosa non facile a mettersi in chiaro.

Si poteva forse presumere che quest'elemento infettivo rappresentato dal bacillo dell'Influenza associato al *bacterium coli* e fors'anco a dei prodotti venefici agenti a guisa di fermenti sviluppatisi dall'alterato epitelio intestinale abbia potuto esercitare un'azione distruttiva diretta sulle cellule epatiche, cioè una specie di digestione? All'A. sembra di no poichè in altre circostanze il bacillo dell'Influenza si è trovato moltiplicato in abbondanza nell'intestino umano, determinandovi delle lesioni ad andamento tifoso (*Fröhlich*, *Wörner*, *Da Costa*), senza che per questo vi fossero le note cliniche ed anatomiche dell'atrofia acuta del fegato.

Per spiegare il meccanismo d'azione del bacillo dell'Influenza l'A. prende le mosse dalle proprietà biologiche del detto bacillo, nonchè dalle conoscenze che si hanno sulla fisio-patologia delle cito-tossine, dai

risultati degli studi di *Salkowsky* e di *Jakoby*, nonchè di alcune sue proprie esperienze, fatte nelle cavie inoculandole con le colture del bacillo da lui isolato, dopo di avere legato il condotto coledoco.

L'A. ammette che il meccanismo d'azione del bacillo dell'Influenza associato al *bacterium coli* si possa distinguere in due fasi o periodi ben distinti, i quali spiegano l'andamento progressivo dell'itterizia ed il graduale atrofizzarsi del fegato.

In un primo periodo avviene il trasporto al fegato per la via delle diramazioni intraepatiche della vena porta di masse di bacilli dell'Influenza e di *bacterium coli* moltiplicantesi nell'intestino, e forse anco associati a prodotti di disfacimento dell'epitelio intestinale. Il bacillo di *Pfeiffer* trova buon punto di presa sulla cellula epatica funzionante per la presenza di concrezioni di emoglobina nel protoplasma dell'elemento epatico; eccita da principio la cellula alla funzione fabbricando più bile dai globuli rossi che distrugge man man che si moltiplica. La bile che si forma in eccesso non viene tutta eliminata ma parte di essa passa nel sangue.

Nel secondo periodo ha luogo la moltiplicazione del bacillo nel sangue circolante, moltiplicazione che è resa più facile dall'alterata crasi per la presenza della bile. Durante questa moltiplicazione vanno distrutti molti globuli rossi, incominciando dai meno resistenti, e dai prodotti di tale distruzione, emoglobina e stromi e forse anche da altri elementi dell'organismo ammalato si forma un fermento speciale che da solo od insieme al bacillo dell'Influenza determina la dissoluzione delle cellule epatiche, cioè il quadro dell'atrofia acuta del fegato.

Il bacillo adunque sarebbe la causa necessaria ma non diretta od immediata dell'atrofia acuta del parenchima epatico. Esso agirebbe in modo indiretto e con la concomitanza di una speciale circostanza, cioè della presenza della bile nel sangue e forse di prodotti di disfacimento di altre cellule. La causa immediata dell'epatolisi sarebbe in conclusione uno speciale fermento che si produrrebbe dalla distruzione dei globuli rossi e forse anche di altri elementi cellulari.

Discussione.

MOTTA-COCO domanda se le lesioni renali non avrebbero potuto essere esse fra le cause della atrofia acuta del fegato nei casi citati dall'A.

BONOME risponde che furono si trovate lesioni gravi degenerative nei reni, ma non tali da spiegare poi secondariamente le alterazioni epatiche.

Adunanza pomeridiana del 6 Ottobre.

Presiede il Prof. **BONOME.**

PÉPERE A. — Sui teratomi del testicolo.

Espone un caso di tumore del testicolo asportato ad un individuo di 66 anni, nel quale esso s'era sviluppato in 6 mesi soltanto, senza altri disturbi che quelli provenienti dal suo volume. La massa neoplastica, grossa all'incirca quanto due pugni di adulto riuniti e di forma ovoidale, si mostrava all'esame microscopico chiaramente composta di tessuti diversi, disordinatamente disposti e la glandola, ridotta a meno di un quarto del volume normale e atrofica, si trovava ricacciata verso il polo superiore di essa e un po' indietro. Dalla ricerca istologica la neoplasia si riconosce come un tumore embrioide fra i più completi descritti, dal perchè consta di tessuti e di organi, anche fra quelli a struttura molto complessa, provenienti fra tutti e tre i foglietti embrionali (cute e suoi annessi, sistema nervoso centrale e periferico, polmone, fegato, rene, intestino, milza, glandole linfatiche, mammelle, muscolo, cartilagine, ecc.) in gran parte con caratteri istologici fetali. Ciò che dimostra le anomalie di accrescimento reciproco dei varii tessuti, è che mentre alcuni organi si trovano in uno stadio di sviluppo avanzato, altri sono relativamente in ritardo o appena abbozzati, potendosi all'incirca stabilire per ciascuno il grado di sviluppo. L'O. è di opinione che non possa essere mantenuta la distinzione netta fra teratomi ed embriomi delle gl. genitali, basata com'è sopra caratteri di struttura che spesso, come nel suo caso, diventano comuni; e ciò perchè quelli e questi rappresentano modalità diverse di accrescimento, ma la origine deve essere unica: anzi egli allarga la categoria delle mostruosità, ritenendo che dai comuni tumori misti ai prodotti più complessi di mostruosità parassitiche non ci siano che gradi diversi di sviluppo di prodotti riferibili ed una sovra-produzione nei primi periodi di formazione dell'organismo. Accennando alle varie dottrine emesse sulla genesi dei tumori embrioidi (anaplasia, partenogenesi, ermafroditismo parziale, diplogenesi, fecondazione di corpuscoli polari, prodotti della proliferazione patologica delle cellule spermatiche, ecc.) ne mostra i difetti e le manchevolezze e accetta la dottrina blastomerica come la più soddisfacente, propendendo a credere che i teratomi delle gl. genitali sono equivalenti alle inclusioni fetali e alle vere inclusioni parassitarie attraverso una serie di esemplari relativamente più perfetta.

CAGNETTO G. — Sulla relazione anatomica fra acromegalia e tumore ipofisario. (Con proiezione e dimostrazione di preparati).

È ancora discusso se l'acromegalia sia l'effetto di una cessata o esagerata funzione ipofisaria o se il tumore dell'ipofisi non rappresenti piuttosto un semplice sintoma. L'A. riferisce su due casi di tumore dell'ipofisi.

Il primo era scompagnato da fatti di acromegalia: aveva la grossezza di una noce e, sporgendo dalla cavità della sella turcica, aveva distrutto l'opercolo, il *tuber cinereum* e i corpi mammillari venendo a protendere nella cavità del ventricolo medio. All'esame istologico del tumore fu fatta diagnosi di sarcoma polimorfo telangettasico. Il lobo ghiandolare dell'ipofisi era nettamente separato dal tessuto neoplastico e ridotto ad una sottile lamina, che non conteneva cellule cromofile e solo in piccola quantità blocchi di sostanza colloide.

Il secondo tumore fu ritrovato in un individuo di 35 anni con tutte le note somatiche proprie dell'acromegalia: inoltre all'autopsia fu ritrovato un ingrossamento generale di tutto il midollo spinale, reperto anatomico non ancora osservato da altri, ed una cardio ed epatomegalia. L'esame istologico del tumore dimostrò trattarsi di struma adenomatosa dell'ipofisi con avanzata degenerazione cancerigna.

La prima di queste due osservazioni si oppone all'ipotesi che la diminuzione della funzione ipofisaria sia la base e la causa dell'acromegalia. La seconda non conferma il fatto opposto, che cioè l'acromegalia sia l'effetto dell'iperfunzione ipofisaria, perchè in quel caso l'ingrossamento degli arti continuò fin poco prima della morte, quando ormai l'avanzata degenerazione cancerigna del tumore non poteva concedere una iperfunzione dei resti della pituitaria.

Piuttosto si può pensare con *Arnold*, *Hansemann*, *Strumpell* e *Vassale* che l'acromegalia sia l'effetto di un disordine, ancora ignoto, del ricambio materiale, il quale disordine eccita alcuni distretti dello scheletro e, in un primo tempo, anche l'ipofisi ad una attiva neoformazione iperplastica.

VANZETTI F. — Contributo al processo di calcificazione dei vasi cerebrali.

(Questa comunicazione fatta alla R. Accademia di Medicina di Torino nella Seduta del 26 giugno 1903 è stampata nel Giornale della R. Accademia di Torino, 1903, n. 7, 8).

Riferisce su due casi simili occorsi al tavolo anatomico; in uno, con storia clinica riflettente il sistema nervoso, nel secondo con sola notizia di alcoolismo.

In ambedue i casi le lesioni apprezzabili macroscopicamente come sottili aghi rigidi e consistenti, sporgenti dalle superfici di taglio, si

rivelavano al microscopio come una deposizione di sali di calce nello spessore delle pareti dei vasi, da quelli di medio calibro fino alle più fini ramificazioni capillari.

Questa deposizione calcarea, presente a vario stadio di sviluppo nei vari punti del cervello, si manifesta sotto forma di piccole sfere o zolle amorfe nello spessore della media e dell'avventizia restando integro l'endotelio: in seguito queste sferule aumentando e confluendo occupano tutta la parete del vaso, l'endotelio si altera, si ha trombosi e in qualche vaso tutto il lume è occupato da calce. Le lesioni del tessuto nervoso decorrevano parallele a quelle dei vasi. Nel resto del cadavere nessuna alterazione del sistema vasale.

L'A. ritiene trattarsi in due casi di un processo di calcificazione dei vasi cerebrali indipendente da endo-arterite e verosimilmente non legato a processi inflammatori nè ad alterazioni generali o locali di altri tessuti: forse è da pensare ad un'alterazione di nutrizione istituitasi primitivamente nei vasi del cervello e di cui la etiologia in gran parte ci sfugge.

RAVENNA E. — Noma e localizzazioni rare del bacillo del tifo.

L'autore ebbe occasione di praticare l'autopsia di un giovanetto di 15 anni colpito da noma alla guancia sinistra all'inizio della convalescenza di malattia diagnosticata per tifo, ed oltre al processo gangrenoso che aveva distrutto gran parte della guancia trovò meningite purulenta, tumore acuto di milza, tumefazione dei gangli linfatici del mesentere, ma nessuna lesione apprezzabile nell'intestino.

Culture fatte nei mezzi di nutrizione più vari dal sangue, dalla milza e dall'essudato meningeo diedero sviluppo unicamente a un bacillo, culture fatte col materiale del noma preso alla zona di confine diedero sviluppo oltre che allo stesso bacillo che sempre era in prevalenza, anche allo stafilococco piogeno aureo.

Il bacillo aveva tutti i caratteri morfologici e culturali di quello del tifo ed anche colla forma e disposizione a gruppetti tipica si presentava all'esame microscopico degli organi specialmente nel territorio gangrenoso unito a cocchi a differenza dei quali però si approfondiva molto nel tessuto sano, abbondantissimo e solo si presentava nella milza, nell'essudato della meninge e nel fegato.

Col materiale del noma si produsse per iniezione sottocutanea nel coniglio un voluminoso ascesso che andò a guarigione, nella cavia un focolaio suppurativo-necrotico che condusse a morte l'animale.

Il bacillo isolato produsse specialmente nelle cavie coll'iniezione endoperitoneale la morte con peritonite fibrino-purulenta.

Dall'illustrazione di questo caso si possono ritenere dimostrati tre interessanti reperti anatomo-patologici.

I. Una setticemia da bacillo del tifo senza apparenti lesioni intestinali.

II. Una meningite sierosa-purulenta da bacillo di Eberth.

III. Un noma da cui la specie bacterica isolata in maggior copia è data dal bacillo del tifo.

Di un secondo caso di noma l'A. non può riportare che i risultati dell'esame microscopico, che mette in rilievo essere due le forme bacteriche colorate in grembo al tessuto gangrenato della guancia, cioè un cocco che predomina ove più avanzata è la necrosi e un bacillo abbondantissimo verso il tessuto in mezzo al quale si infiltra senza molto approfondirsi.

Non si mise in rilievo nei due casi forma alcuna nè di spirilli nè di funghi.

L'opinione dell'A. sulla patogenesi del noma è che tale forma morbosa non sia causata da un microrganismo specifico.

Discussione.

STRADA ha avutó occasione di studiare 3 casi di noma. In tutti e 3 i casi prima dello sviluppo del noma si era avuta un'infezione tifosa. Nel primo caso il noma si sviluppò circa 2 mesi dopo la convalescenza della tifoide, negli altri 2 dopo 1 mese circa. Solo in un caso erano ancora rilevabili delle lievi alterazioni intestinali in relazione alla tifoide, pregressa. Da 2 di questi casi l'A. potè isolare insieme ad altre forme un b. che a prima vista poteva scambiarsi con un b. del tifo o un b. coli. La diagnosi differenziale stabilì però che si trattava di un b. speciale, diverso dal b. del tifo e dal b. coli. Questo b. inoculato in quantità piccolissime (poche goccie) sotto la mucosa nella guancia del coniglio, riproduceva una forma di necrosi del tessuto che arrivava fino all'osso, e aveva molta somiglianza col noma dell'uomo.

Quanto al reperto della *streptotrix*, l'A. l'ebbe positivo in 2 casi ma le culture, difficili a ottenersi, inoculate negli animali si dimostrarono inattive.

Quanto agli spirilli potè riscontrarne la presenza in un caso, coi preparati diretti fatti dal tessuto nomatoso.

BONOME fa notare che il non aver trovato il *Ravenna* lesioni nell'intestino ad un tempo così lontano dall'inizio della malattia non esclude che vi sieno state e che sieno guarite.

RAVENNA insiste sul fatto che la diagnosi di bacillo del tifo nel caso suo è sicurissima.

MONTI i risultati di *Strada* non debbono intendersi come contraddittorî rispetto a quelli di *Ravenna*. Questi ci ha illustrato un ca di noma dovuto a bacillo del tifo associato ad altri germi, caso int ressante sotto diversi aspetti per le varie manifestazioni e complic zioni. Il dott. *Strada* dal noma ha isolato un bacillo diverso dal bacill

tifoso, e capace di produrre negli animali un processo di sfacelo estremamente caratteristico e ben paragonabile al noma dell'uomo. Se pertanto dagli studi di *Ravenna* e di *Strada* si può trarre una conclusione, deve dirsi col *Ravenna* che probabilmente il noma non ha un'eziologia unica, ma può essere determinato da diversi microrganismi.

RAVENNA E. — Un altro caso di alterata sensibilità igrica.

Si tratta di individuo affetto da paralisi progressiva, che mostrò negli ultimi tre mesi di vita spiccatissimo il senso di bagnato. Il reperto istologico delle circonvoluzioni dell'Hippocampo di ambedue i lati si può riassumere così:

1. Le cellule ganglionari sono in preda a gravissime alterazioni rappresentate dalla degenerazione pigmentale, dalla degenerazione vitrea o dalla distruzione del protoplasma.

2. Esistono specialmente verso la superficie esterna delle circonvoluzioni, dei focolai di gliosi, estesi molto nel senso della lunghezza e poco in profondità.

3. Abbondanti sono dei corpuscoli glicogenici ed in modo speciale numerosi e riuniti ad accumuli nei tratti ove esiste la gliosi.

L'esame microscopico di controllo di un'altra circonvoluzione, la frontale media, dimostra le stesse alterazioni delle cellule ganglionari, assai scarse invece le iperplasie di nevroglia e quivi in piccolissimo numero i corpuscoli glicogenici.

Non può decidere senz'altro che parli a favore della localizzazione proposta dal *Tambroni*, la circostanza che alcune lesioni si presentano in modo più diffuso o più intenso nella circonvoluzione dell'Hippocampo. È lecito però pensare che i disturbi della sensibilità igrica insorgessero quando i processi degenerativi, che pure erano diffusi ad altre parti del cervello del paralitico, colpirono con una data intensità la circonvoluzione dell'Hippocampo.

Non intende l'O. con questa osservazione di giungere a conclusioni decisive sulla localizzazione della sensibilità igrica; gli sembra tuttavia di un certo interesse il reperto di lesioni gravi nelle circonvoluzioni dell'Hippocampo.

BIZZOZERO ENZO. — Ricerche sugli innesti di polmone fetale ed adulto di coniglio. (Con dimostrazione di preparati).

Riferisce su ricerche da lui fatte ed insieme dimostra quattro preparati.

Il *polmone fetale*, come è noto, è una ghiandola tubulare, costituita da alveoli tappezzati da epitelio cilindrico, 24 ore dopo l'atto operativo la parte centrale cade in necrosi, mentre permane in vita solamente la porzione periferica che appare più o meno fittamente in-

filtrata da leucociti a nucleo polimorfo. In seguito gli alveoli si dilatano gradatamente fino a raggiungere un volume 4 o 5 volte maggiore del primitivo; l'epitelio poco per volta si appiattisce, in certi punti in grado notevolissimo; il connettivo interalveolare si riduce di volume, cosicchè il polmone acquista una struttura che si avvicina assai a quella del polmone adulto. Verso il 13°-14° giorno però cominciano a comparire in esso dei fenomeni degenerativi che rapidamente lo invadono, cosicchè dopo 16–17 giorni esso è ridotto in una massa necrotica costituita in prevelenza da frammenti di nuclei. Essa viene poi riassorbita e sostituita dal tessuto connettivo circostante.

Il *polmone adulto* invece ha un comportamento affatto diverso. Anche qui la parte centrale 24 ore dopo l'innesto cade in necrosi, mentre nello strato periferico compaiono dei fatti degni di nota. Le cellule epiteliali tappezzanti di alveoli poco per volta si rigonfiano ed acquistano una forma ora cubica, ora cilindrica. Poi, verso il 3° giorno, si manifestano in esse dei fenomeni di proliferazione che aumentano rapidamente di intensità, cosicchè hanno origine numerosissimi nuovi elementi che si dispongono ora sotto forma di zaffi, ora sotto forma di alveoli, che, per essere ovali o rotondeggianti e per essere forniti di epitelio cilindrico, vengono ad assomigliare un poco a quelli del polmone fetale normale. Però quantunque il pezzo trapiantato abbia trovato nel nuovo ambiente delle condizioni favorevoli al suo sviluppo, non permane a lungo in vita; ed infatti verso il 10°-12° giorno le cellule cominciano a perdere la loro forma, i nuclei si frammentano, e la massa necrotica così originatasi viene sostituita da connettivo; cosicchè, dopo un periodo variante tra i 18 e 20 giorni non si riscontra più altro che un nodulo connettivo, povero di cellule, alcune delle quali contengono qualche granulo di pigmento, unico avanzo del pezzo trapiantato.

Discussione.

BONOME domanda alcuni schiarimenti che vengono dati dal Relatore.

PERRONCITO ALDO. — Ricerche sugli organi nervosi terminali dei muscoli striati e dei tendini. (Con dimostrazione di preparati).

L'O. comunica i risultati delle sue ricerche e presenta preparati corrispondenti ai reperti su cui riferisce. Egli si è occupato di quella categoria di fibrille nervose che *Ruffini* ha descritto nei muscoli dell'eminenza tenare dell'uomo, ed a cui ha dato il nome di *ultra-terminali*, in base all'esistenza delle quali egli conclude che le piastre motrici non rappresentano la terminazione vera e propria dei nervi motori. L'autore ha potuto dimostrare come tali fibrille esistano in tutti i muscoli dei rettili e come esse terminino costantemente e decisamente

in un rigonfiamento, o in una placca rudimentale, in generale sui fusi neuro-muscolari, eccezionalmente sulle fibre muscolari comuni. Ha potuto pure constatare che lungo il decorso della fibra nervosa, che va alla placca motrice, possono spiccarsi da essa fibrille che si comportano in modo affatto analogo a quelle che partono dalla terminazione. Da questi risultati egli trae le conclusioni:

1. Che le fibrille così dette *ultra-terminali* terminano costantemente;

2. Che esse hanno il valore di collaterali poichè si comportano esattamente allo stesso modo delle collaterali;

3. Cha al fuso neuro-muscolare, contrariamente a quanto si sosteneva de molti (*Ruffini*, *Giacomini*, ecc.), arrivano nervi certamente motori.

Questi reperti sono stati confermati recentemente riguardo ai mammiferi da *Cavalié*. In base ad argomenti tratti dallo studio della questione sullo stesso terreno di ricerca, l'autore combatte il modo di vedere di *Ceccherelli* riguardo alle terminazioni nervose dei muscoli della lingua di rana e sostiene che anche qui le fibrille così dette *ultra-terminali* terminano costantemente.

Nelle placche motrici più specialmente dei rettili, l'autore ha potuto spesso rilevare il fatto che ad esse, oltre alle fibre midollate che danno luogo alle note, tipiche arborizzazioni terminali, arriva un secondo sistema di fibrille nervose di estrema finezza, che, entro alla stessa placca, formano un intreccio fine e caratteristico. Esse provengono da un sistema di finissime fibrille che decorrono nei fasci nervosi, tra le fibre midollate e sul decorso delle quali si vedono con una certa frequenza dei nuclei ovali, allungati, coi quali certamente contraggono intimi rapporti. Circa gli eventuali rapporti di tale sistema di fibrille, l'O. rileva il fatto, dimostrandolo con un preparato, che talora si può nettamente vedere una fibrilla che mette in rapporto l'intreccio caratteristico della placca con un plesso nervoso vasale. Naturalmente questo rapporto anatomico fra placche motrici e vasi sanguigni costringe a pensare ad un rapporto funzionale: probabilmente che l'organo terminale motore abbia influenza sullo stato dei vasi.

Anche riguardo ai fusi neuro-muscolari dei rettili e degli anfibi, l'O. ha potuto dimostrare una nuova categoria di finissime fibrille, di cui ha descritta la presenza nelle placche motrici. Tali fibrille giungono al fuso decorrendo nella guaina di *Henle* della fibra midollata che dà luogo alla principale terminazione nervosa dell'organo; si dividono e si intrecciano fra loro nel punto d'ingresso, formando un plesso talora ricchissimo; di qui si diramano poi decorrendo prevalentemente nella guaina e formandovi degli intrecci. Anche riguardo a queste fibrille che entrano alla costituzione dei fusi, osserva che talora contraggono rapporti colle fibre che seguono i vasi.

Infine riguardo alle reticelle nervose dei tendini dei rettili l'O. ha potuto verificare una particolarità analoga: intrecci ricchi e complicati di fibrille accompagnano le fibre midollate, avvolgono le reticelle caratteristiche descritte da *Golgi*, si estendono da reticella a reticella conservandosi apparentemente indipendenti da esse. Talune di esse si allontanano dagli intrecci, decorrendo nello spessore del tendine, andando, a quanto sembra, a far parte di quel plesso nervoso a grandi maglie di fibre pallide, che è stato osservato da *Golgi* nei tendini di questi animali.

MARZOCCHI V. – Sugli eritrociti granulosi.

Malgrado le ricerche di *Cesaris Demel*, che conclusero in favore dell'identità delle granulazioni eritrofile e cianofile degli eritrociti, fondandosi sulla somiglianza della disposizione della sostanza tingibile, poteva rimanere qualche dubbio in proposito, perchè assai difficilmente, nei conteggi praticati su due saggi dello stesso sangue trattati l'uno col rosso neutro, l'altro col metodo di *Poggi*, o con quello di *Guarnieri* e *Daddi*, si ottengono risultati corrispondenti. Mi parve quindi opportuno cercare se, tenendo sotto al microscopio in osservazione dei globuli rossi, già colorati con una delle due sostanze (azzurro di metilene e rosso neutro) fosse possibile vedere direttamente quando si aggiunge l'altro, una sostituzione di questa alla prima.

Numerose esperienze istituite sul sangue di due conigli e di due ratti albini mi condussero alle seguenti conclusioni.

1° I granuli colorati in azzurro negli eritrociti trattati col metodo di *Poggi*, o con quello di *Guarnieri* e *Daddi*, coll'aggiunta di rosso neutro, assumono più o meno lentamente un color rosso;

2° I granuli colorati in rosso negli eritrociti trattati col rosso neutro, se sottoposti all'azione di una soluzione concentrata di azzurro di metilene, assumono più o meno lentamente un colore azzurro;

3° Questi fenomeni possono avvenire in due modi: o si osserva subito, dopo l'aggiunta della seconda sostanza, una completa decolorazione delle granulazioni ed un successivo ricolorarsi, oppure si vedono gradatamente mutarsi le tinte di dette granulazioni, passando attraverso a tutti i toni di colore intermedio fra il rosso e l'azzurro. La disposizione delle granulazioni del globulo rosso dopo la ricolorazione è identica a quella che esse presentavano prima;

4° Le granulazioni ed i nuclei dei leucociti si comportano in modo analogo;

5° Durante lo svolgimento di questo fenomeno, spesso si riduco in ombre i globuli rossi granulosi. Anche alcuni eritrociti non granul si riducono ad ombre; queste mostrano talvolta alla periferia dei g nuli colorati;

6° Una miscela dei due colori, se riuscita opportunamente, dapprima colora le granulazioni degli eritrociti in rosso; questo più tardi viene sostituito dall'azzurro.

Discussione.

Su questa comunicazione prendono la parola i soci PETRONE e FOÀ P.

MARZOCCHI V. — Sui processi rigenerativi delle ghiandole salivari sierose.

In una serie d'esperienze sulle conseguenze d'una forte ischemia di dette ghiandole (legatura dei vasi principali della sottomascellare del coniglio) ho trovato che il parenchima ghiandolare si presenta, dopo qualche giorno, necrotico al centro; più perifericamente gli elementi sono raggrinzati e a nuclei picnotici; alla periferia esiste un orlo costituito da elementi degli acini ancora ben conservati, che mostrano mitosi, ma sono come dissociati, non presentando più la disposizione caratteristica dell'acino.

Attorno agli elementi che stanno morendo, si notano altri elementi lunati, se veduti in sezione, a citoplasma basofilo, che gradatamente assumono un notevole volume, proliferano, si dispongono in più strati, e, riempiendo lo spazio già occupato dagli elementi dell'acino e del dotto in cui si sviluppano, formano numerosi cordoni pieni di varia grossezza. Questi in seguito si mostrano cavi al centro trasformandosi in canali rivestiti da epitelio cilindrico disposto su uno strato solo. Nei periodi tardivi questi canali, si vedono in rapporto intimo con formazioni, in cui si possono agevolmente riconoscere dei veri acini salivari.

Partendo da questi dati di fatto, ho voluto studiare quali fenomeni avvengano in dette ghiandole, quando ne venga asportata una notevole porzione.

Questi fenomeni sono di due ordini.

1° Nel parenchima rimasto illeso si trovano più o meno numerose mitosi, che conducono forse a qualche nuova formazione di tessuto ghiandolare. I dotti maggiori proliferano attivamente, formando ben presto un epitelio a molti strati.

2° La parte della ghiandola più vicina alla ferita cade in necrosi. Nel tessuto necrotico si sviluppano elementi identici a quelli descritti più sopra; questi elementi mostrano in seguito tutti gli stadi d'evoluzione già accennati.

Le formazioni tubulari descritte da *Podwyssotsky*, *Ribbert* e *Inkel*, non dipendono quindi da processi proliferativi della porzione di ghiandola rimasta integra, ma da elementi rimasti vivi in quella porzione, in cui gli elementi funzionanti sono caduti in necrosi.

Quanto alla natura di questi elementi sia per gli argomenti portati

da *Ottolenghi*, che li aveva veduti negli innesti di ghiandola salivare, sia perchè non mostrano, all'epoca della loro prima comparsa, la disposizione d'elementi invadenti un tessuto da punti determinati, ma piuttosto quella d'elementi preesistenti in sito, e semplicemente ipertrofizzantisi, nè per la forma loro, che in sezione è semilunare, ma presenta propagini laterali talvolta ben evidenti, io ritengo trattarsi delle cosiddette « Korbzellen ».

MARENGHI G. — Sull' esportazione delle capsule surrenali in alcuni mammiferi.

Il prof. GOLGI comunica i risultati del compianto dott. *Giovanni Marenghi* sull'esportazione delle capsule surrenali in alcuni mammiferi.

Come è noto, è tuttora opinione prevalente fra i biologi che le capsule surrenali sieno organi indispensabili e che « la distruzione di esse è incompatibile colla vita ». Questa è la testuale conclusione proclamata anche nella recente monografia di *Oppenheim* (1902) ed alla stessa conclusione, per dire solo delle pubblicazioni di più recente data, pur conducono le ben note ricerche di *Vassale* e quelle di *Vassale* e *Zanfrognini:* la morte avverrebbe costantemente e rapidamente con sintomi acuti, caratteristici ben descritti nei varii lavori.

Contrariamente all'opinione così diffusamente accettata, in una riassuntiva comunicazione fatta, nei primi mesi di quest'anno all'Istituto Lombardo, con esperienze su cavie, conigli, cani e gatti, il *Marenghi* ha dimostrato che praticando l'operazione colle modalità da lui indicate, pur dopo l'asportazione di ambedue le capsule surrenali gli animali possono vivere anche a lungo e in buone condizioni, per quanto nel modo di comportarsi in seguito all'operazione le varie specie di animali abbiano offerto differenze.

In genere tutti gli animali si rimettevano rapidamente dalla grave operazione subita: le differenze si ebbero nel comportamento successivo. Le cavie, dopo aver vissuto in buone condizioni per 3, 4, 5 giorni, morirono tutte entro 4–6 giorni, presentando costantemente all'autopsia polmonite bilaterale. I conigli hanno resistito benissimo all'asportazione delle capsule e furono sacrificati a intervalli di tempo fra i 2 ed i 3 mesi dall'operazione, senza che mai avessero presentato alcun grave fenomeno e senza che in essi si riscontrasse all'autopsia traccia di capsule surrenali. Anche i cani ed i gatti possono secondo le esperienze di *Marenghi* sopravvivere all'esportazione delle due capsule surrenali; ma pare che la sopravvivenza sia più facile quando l'operazione è eseguita in tre tempi.

Questi sono in succinto i risultati che il *Marenghi* ha già fatto c noscere nella surricordata comunicazione all'Istituto Lombardo.

Il *Marenghi*, però, intendeva continuare l'importante studio così c punto di vista fisiologico che da quello fisio-patologico. Nell'Istituto c

Patologia Generale di Pavia, ove egli lavorava, sono anzi rimasti numerosi animali che, dopo essere stati da lui sottoposti ad atti operativi (mono o biscapsulazione), dovevano essere oggetto di esperienze ulteriori.

Il prof. *Golgi* anche per rendere omaggio alla memoria di uno studioso forte e geniale quale fu il *Marenghi*, avrebbe voluto utilizzare tutto quel materiale di lavoro sia col continuare le interrotte esperienze, sia col presentare fin d'ora ai colleghi, a riconferma dei risultati che il *Marenghi* ha già pubblicato, a guisa di documenti in atto, parecchi di quegli animali. Il prof. *Golgi* dichiara che a questo pensiero, fino ad ora, solo in piccola parte han potuto, per ragione di tempo, corrispondere i fatti. Ad ogni modo, in questa occasione egli intende presentare un animale appartenente a quella serie — gatto che da oltre 6 mesi privato di ambedue le capsule, per tutto questo tempo ha vissuto nel Laboratorio in buone condizioni di salute — perchè, se l'auptosia farà constatare, com'egli crede, la completa mancanza dei detti organi, esso rappresenterà un nuovo documento di indiscutibile valore dimostrativo nella questione sempre tanto controversa, dell'importanza vitale degli organi in questione. Siffatta constatazione, il prof. *Golgi* non crede superfluo riaffermare a questo punto, potrà ad ogni modo solo far sentire la necessità di indagare con maggiore insistenza quale sia l'organo o quali siano gli organi dai quali, colla soppressione delle capsule surrenali, può essere assunta una corrispondente funzione compensatrice, non essendo possibile ammettere che dell'importante funzione spettante alle capsule surrenali l'organismo possa senz'altro fare a meno!

Intorno a siffatta questione di possibili compensi anatomici e funzionali da parte di altri organi, il prof. *Golgi* rileva come non facciano difetto le ipotesi, ma che in linea di ricerca i dati di fatto mancano completamente. Dopo aver ricordato le ipotesi di *Brown-Sequard*, gli accenni di *Boinet* ad una compensazione da parte della tiroide, dei gangli della milza ed anche del corpo pituitario, pur ricordato quanto, a puro titolo di ipotesi, *Vassale* e *Zanfrognini* hanno detto circa la possibilità di una compensazione da parte dei così detti corpi cromaffini (residui del corpo parasimpatico di *Zuckerkandl*) che talora si riscontrano in corrispondenza del simpatico, il prof. *Golgi* rileva come, anche su questo punto le ricerche di *Marenghi* abbiano messo in luce un fatto nuovo.

Il *Marenghi* ha potuto dimostrare che nella porzione ghiandolare dell'ipofisi, in seguito alla biscapsulazione si presentano numerose cariocinesi, dinotanti lo svolgersi di una ipertrofia compensatrice. Le cariocinesi si riscontrano nell'una e nell'altra categoria di cellule che partecipano alla costituzione del tessuto ghiandolare dell'ipofisi. È evidente che di tale reperto non si può non tener conto nell'interpretazione dei fatti che seguono alla biscapsulazione.

Premesse queste note, il prof. *Golgi* dichiara che farà la preannunziata dimostrazione: 1° Col presentare il gatto portato da Pavia per la verifica delle sue condizioni fisiologiche; 2° coll'autopsia dell'animale per la eventule constatazione della completa mancanza delle capsule surrenali e di capsule accessorie; 3° Colla presentazione di un preparato microscopico di ghiandola pituitaria per la dimostrazione delle forme cariocinetiche verificate dal *Marenghi*.

* * *

FOÀ prende argomento dalla comunicazione fatta dal prof. *Golgi* per proporre che la Società esprima collettivamente le condoglianze alla famiglia del compianto consocio dott. *Marenghi*.

La proposta viene approvata.

Discussione.

CAGNETTO domanda dove esistono le cariocinesi nell'ipofisi.

CARBONE domanda se il gatto operato è stato operato da giovane, perchè in questo caso esistendo lungo il simpatico molta sostanza cromaffine, questa potrebbe supplire le cassule surrenali senza bisogno di far entrare in questione l'ipofisi.

Fa poi notare che macroscopicamente non si vedono lungo il simpatico i noduli di sostanza cromaffine, ma che si possono mettere in evidenza solo col trattamento col bicromato e percloruro di ferro.

GOLGI risponde che le cariocinesi nella ipofisi si trovano specialmente alla periferia: dice che il gatto aveva dai 6 ai 7 mesi al momento dell'operazione e che è certa l'assoluta mancanza di qualsiasi residuo di sostanza cromaffine in sito e lungo il simpatico.

* * *

Le dimostrazioni qui annunziate ebbero luogo la mattina del giorno 7 alla presenza di molti congressisti.

Il gatto presentato aveva subito una prima operazione — esportazione della capsula surrenale di sinistra mediante laparotomia — il 14 febbraio; il 24 dello stesso mese seconda operazione per l'esportazione di parte della capsula destra; il 4 marzo terza operazione per esportare la restante porzione di capsula. Lo stesso animale subì poi due successive laparotomie esplorative (l'una il 25 marzo, l'altra alla fine di aprile) colle quali non fu possibile scoprire traccia di capsule surrenali.

All'epoca della prima operazione l'animale aveva l'età di cir sei mesi.

L'autopsia, eseguita colla massima accuratezza, fa rilevare che tan a sinistra, quanto a destra, di capsule surrenali non si ha traccia.

attento esame per l'eventuale verifica di capsule accessorie, dà pure risultato negativo.

Per la ricerca dei corpi cromaffini lungo l'aorta e la cava e in prossimità dei gangli del simpatico, si fa precedere l'azione prolungata di una soluzione di bicromato di potassa al 3 per 100. Anche questa ricerca, per quanto può risultare dall'esame fatto, per ora, ad occhio nudo dà risultato assolutamente negativo.

Essendo stato sollevato il dubbio che una piccola striscia di tessuto giallognolo riscontrata alla superficie inferiore del fegato, ove quest'organo aveva contratto aderenza col rene destro, per avventura fosse da riferirsi a frammento di tessuto della capsula surrenale rimasta aderente al fegato, si eseguirono immediatamente dei preparativi microscopici di tessuto staccato da quella striscia e constatavasi trattarsi di vero e proprio tessuto epatico.

Finite le esplorazioni ad occhio nudo, si giudicò opportuno di asportare ampiamente il tessuto (tessuto della regione renale, reni compresi, tessuto comprendente i grossi vasi e simpatico addominale, vasi e gangli pur compresi) entro il quale potrebbero essere annidati, per quanto non visibili ad occhio nudo, dei nodetti di sostanza cromaffine, per ulteriori esami da eseguirsi col mezzo di metodiche sezioni in serie, previa ulteriore azione col bicromato ed indurimento.

Finalmente, un preparato microscopico di ghiandola pituitaria esposto, ha pur documentata l'esistenza di numerose forme cariocinetiche negli elementi di quest'organo.

Dopo queste dimostrazioni, il prof. *Golgi* si è dichiarato lieto di poter affermare che le conclusioni, già dal compianto dott. *Giovanni Marenghi* formulate circa gli effetti dell'esportazione delle capsule surrenali, non avrebbero potuto ottenere una riconferma più completa, più lucida, più convincente di quella che dalle stesse dimostrazioni fatte ai colleghi della Società dei patologi italiani è derivata.

CESA-BIANCHI. — Di una costante alterazione dell'ovaia in seguito all'esportazione delle capsule surrenali in alcuni mammiferi.

L'A. asportando entrambe le capsule surrenali in numerose cavie e coniglie, ha potuto notare costantemente nell'ovaia la presenza di numerosi focolai di degenerazione adiposa, per lo più abbastanza estesi, qualche volta ben delimitati, talaltra insensibilmente continuantesi col tessuto circostante. Questi focolai di degenerazione adiposa interessano esclusivamente la zona midollare dell'ovaia, e, più precisamente, quegli accumuli di elementi cellulari, di forma rotondeggiante o poliedrica, la cui natura non è ancora con certezza stabilita, che sono particolarmente numerosi nelle ovaie di cavia e di coniglia. Nella cavia già nel secondo giorno dalla scapsulazione completa, cominciano ad apparire qua e là nella zona mi-

dollare, piccoli punti di degenerazione, interessanti pochi elementi cellulari, che appaiono rigonfi, pieni di gioccioline splendenti, col nucleo fortemente spinto alla periferia. In seguito, almeno fino alla quinta giornata dalla scapsulazione, durante la quale di solito le cavie soccombono, questi piccoli punti si ingrandiscono, confluiscono spesso tra loro, dando luogo alle ricordate zone di degenerazione.

Nelle coniglie si osservano gli identici fatti, soltanto la lesione descritta incomincia un po' più tardi che non nella cavia, verso la quinta giornata dall'asportazione delle capsule surrenali, e non raggiunge mai, anche nei casi di maggiore sopravvivenza degli animali, che furono sacrificati ad intervalli di tempo l'uno dall'altro, l'ultimo dopo due mesi e mezzo dalla scapsulazione, l'estensione cui spesso arriva nella cavia.

È notevole il fatto che in una coniglia, cui, per incompleta asportazione, era rimasto funzionante un piccolo frammento di sostanza corticale di capsula surrenale, non fu possibile riscontrare alcuna lesione nell'ovaia.

Ora pel fatto che, secondo le più recenti vedute, agli accumuli di elementi cellulari, talora disposti in cordoni, qualche volta anche in piccole isole separate da fascetti di connettivo, in cui ha sede la degenerazione descritta, sarebbe legata la funzione di secrezione interna dell'ovaia, sembra all'O. che il reperto messo in evidenza possa stare ad indicare un eventuale rapporto fra la funzione, o le funzioni, delle capsule surrenali e la secrezione interna dell'ovaia; di qual natura possa essere questo rapporto, non crede però doversi pronunciare, non avendo raccolto alcun dato di fatto che l'autorizzi a farlo.

L'A. ricorda ancora che nel corso delle sue esperienze, non ha mai potuto notare, come sostengono numerosi ricercatori, una maggiore resistenza del sesso femminile all'asportazione totale delle capsule surrenali.

In poche indagini, infine, fatte sui testicoli di cavie e di conigli scapsulati non ha potuto notare alcuna lesione di questi organi; per il piccolo numero però di esperienze fatte in proposito l'O. non si crede autorizzato ad escludere in via assoluta la possibilità di lesioni dei testicoli nella scapsulazione; certamente però se queste esistono, non sono nè costanti, nè tanto evidenti come quella descritta nell'ovaia.

TIBERTI N. — Sul potere immunizzante del nucleo-proteide estratto dal bacillo del carbonchio ematico.

L'O. ha voluto anzitutto vedere se era possibile isolare il nucleoproteide del B. del carbonchio ematico e vi è riuscito adoperando il metodo Lustig-Galeotti per la preparazione del nucleoproteide del bacillo pestigeno, con qualche variante, imposta specialmente dalla maggior resistenza del bacillo del carbonchio, verso l'azione dissolvente della potassa caustica e più che altro dalla natura sporigena del microbio.

Ecco come l'O. ha proceduto: trattamento della patina carbonchiosa raccolta da larghe superfici di agar con soluzione di potassa caustica al 2-3 °/₀. Precipitazione con soluzione diluita di acido acetico. Lavaggio abbondante di questo precipitato con acqua stillata sterile. Trattamento con carbonato sodico al 2 °/₀ con che il precipitato si ridiscioglie. Filtrazione alla candella di Chamberland. Dosaggio della sostanza attiva contenuta in una determinata quantità di liquido col metodo dell'evaporazione, dell'incenerimento e delle pesate alla bilancia di precisione.

L'O. sperimentò sulle cavie e sui conigli, ma i resultati negativi ottenuti costantemente sulle prime, lo indussero a ritenere che questi animali, per la loro estrema sensibilità verso il carbonchio, non si prestassero per queste ricerche e limitò le sue esperienze ai conigli.

I conigli inoculati con nucleoproteide del carbonchio furono 24. All'inoculazione seguiva elevamento di temperatura e lieve dimagramento. Giammai fu praticata una iniezione successiva se non era cessata ogni reazione febbrile della iniezione precedente.

I conigli furono vaccinati con dosi variabili di nucleoproteide e le iniezioni furono fatte a diversa distanza di tempo l'una dall'altra.

Dose minima complessiva di nucleoproteide adoperato: 36 milligrammi. Dose massima 119 mm.gr.

Gli animali vaccinati furono infettati con culture virulente di carbonchio, a diversa distanza di tempo dall'ultima vaccinazione: la distanza minima fu di 15 giorni, la massima di 3 mesi e $^1/_2$.

Dei 24 conigli vaccinati dall'O., 17 sopravvissero, e 7 morirono.

Fra i 17 sopravvissuti sono notevoli 9 conigli che furono infettati 3 mesi e $^1/_2$ dopo l'ultima vaccinazione. Negli altri 13 sopravvissuti l'inoculazione di virus carbonchioso fu fatta a distanza minore dall'ultima vaccinazione. I conigli che servirono di controllo morirono tutti regolarmente.

In alcuni fra i conigli vaccinati che soccombettero in seguito alla inoculazione di carbonchio, si verificò un certo ritardo dell'esito letale di fronte ai relativi controlli.

Da queste esperienze l'O. conchiude che è possibile estrarre il nucleoproteide del bacillo del carbonchio ematico e che esso è capace di conferire ai conigli, nel maggior numero dei casi, una immunità attiva contro il carbonchio.

Discussione.

OTTOLENGHI. Domanda quale virulenza possedeva la cultura adoperata da *Tiberti* per infettare gli animali previamente vaccinati. Domanda inoltre se come controlli si servì sempre dei conigli oppure adoperò anche le cavia.

TIBERTI risponde che la virulenza della cultura era tale che ba-

stava la semplice puntura di un ago infettato con essa per uccidere in 48 ore una cavia del peso ordinario. Come animali testimoni adoperò le cavie quando si trattava di controllare i resultati sulle cavie, conigli quando doveva controllare i resultati delle esperienze sui conigli.

TIBERTI N. — Osservazioni microscopiche sulla secrezione pancreatica negli animali smilzati. (Con dimostrazione di preparati).

Le più recenti ricerche di fisiologia hanno dimostrato in una maniera indiscutibile la verità della teoria di *Schiff* della influenza della milza nella digestione pancreatica dell'albumina.

L'O. si è proposto di studiare dal punto di vista istologico il modo di comportarsi della secrezione pancreatica negli animali smilzati, servendosi del metodo *Galeotti* per la colorazione dei granuli (prodotto di secrezione delle cellule).

Dalle ricerche sistematiche praticate su cani smilzati, l'O. si è potuto convincere che, data come dimostrata la influenza della milza sull'attività digestiva del succo pancreatico, questa influenza non si traduce per apprezzabili modificazioni strutturali nelle cellule secernenti degli alveoli pancreatici, e che dal punto di vista morfologico la secrezione granulare di queste cellule si comporta nella stessa guisa negli animali normali e negli smilzati.

All'O. non fu dato neanche osservare particolari modificazioni nelle isole di *Langerhans* e negli epiteli dei dotti escretori.

Discussione.

LOMBROSO domanda alcune spiegazioni alle quali risponde esaurientemente TIBERTI.

MORANDI E. — Sull'infiammazione nei reni.

Riassumo brevemente i risultati degli studi condotti da me nello scorso anno accademico nel laboratorio di Anatomia Patologica dell'Università di Torino.

Essi ebbero due fini: *a*) un primo, di vedere, se col seguire progressivamente lo svolgersi del neoplasma infiammatorio fosse stato possibile di trarre qualche nuovo argomento che valesse a portar qualche contributo sull'intricata questione che s'aggira intorno alla genesi dell'infiltrazione parvicellulare, intorno alla derivazione, al valore fisiopatologico, al destino della plasmacellula, *b*) un secondo di studiare se, e come una determinata variazione di ambiente di esperimento e nel caso mio particolare, lo stato iperemico, esercitasse un'azione, un'influ qualsiasi sullo svolgimento anatomico del neoplasma flogistico stesso

Nella prima serie di esperienze io ho operato sul rene di coni ed agente flogogeno, fu un microrganismo, a virulenza opportuna e p

sumibilmente costante e precisamente il bacillo di Friedländer portato, con apposita tecnica, a contatto diretto col parenchima renale.

Nella seconda serie il procedimento fu lo stesso ma preceduto da un'allacciatura temporanea, gettata sull'alteria emulgente dell'organo in istudio, e lasciata prima di sciogliere la ad interrompere il circolo sanguigno per un'ora e mezzo all'incirca.

La ragione per cui ricorsi a questo procedimento preliminare, consigliatomi dal mio maestro prof. *Foà*, cui mi è grato di esprimere i sensi della più profonda riconoscenza, si è che il breve periodo anemizzante non è capace, da sè, a produrre la necrosi dei tessuti cui è sottratto il circolo sanguigno, però esso basta a determinare uno stato di atonia vascolare, di grande cedevolezze delle pareti dei vasi, facili e proclivi a lasciarsi sfiancare in un primo tempo, in modo affatto analogo a ciò che succede, quando ad un distretto vascolare si sottragga l'influenza vasomotoria.

Infatti, la soppressione temporanea del circolo diminuisce l'intensità dei processi metabolici dei singoli elementi funzionanti di tutto il tessuto e delle pareti dei vasi, che lo irrorano. Ma, appena esso viene reintegrato, vuoi per diminuita tonicità della tunica vascolare vuoi forse anche, ponendo mente ad osservazioni recenti (*Heger*, *Spallita* e *Consiglio*) per azione riflessa esercitata sui nervi vasomotori dal sangue rimasto inerte data la mancanza di vis a tergo nei vasi dell'organo anemico, certo, si ha una dilatazione facile, uno sfiancamento transitorio delle pareti vascolari, uno stato attivamente iperemico del parenchima renale, quindi maggiore attività vitale in esso, perchè maggiore copia di sangue, vuol dire più ossigeno, vuol dire più intensi fenomeni di ricambio, vuol dire maggiore attività chimica e biologica, dei tessuti iperemici.

Le ricerche condotte in altro campo, già dicevano che lo stato iperemico di un organo agevola ed accelera in esso lo svolgimento funzionale di un processo infiammatorio, se, già da lungo tempo, la pratica medica, non più in omaggio alle antiche teorie patologiche umorali, si valeva di tale osservazione fisiopatologica, onde si giustifica la pratica generale delle applicazioni calde, o degli impacchi umidi, o dei senapismi e così via, tutte risorse terapeutiche che mirano a richiamare in terreno infiammato la maggiore ricchezza possibile di circolazione sanguigna, mancava a mio sapere, tuttora all'osservazione fisiopatologica quella istopatologica.

Io, che avevo seguito lo svilupparsi del neoplasma infiammatorio in normali condizioni di ambiente, potevo con relativa facilità istituire delle ricerche parallele e determinare con l'azione del bacillo di Friedländer la formazione del neoplasma cronico e progressivo in organi resi iperemici col procedimento indicato.

Le conclusioni cui debbo, per ragioni di tempo, senz'altro riferirmi,

nell'una e nell'altra serie di ricerche di cui ho parlato, sono le seguenti:

1° Le plasmacellule normali e costanti costituenti del neoplasma infiammatorio, rappresentano una varietà, un momento funzionale della cellula linfocitoide istiogene del connettivo.

2° Esse provengono costantemente da tali cellule linfocitoidi, sia che queste preesistano in loco sotto forma di infiltrazioni normali di ogni connettivo (*Arnold-Ribbert-Foà*) sia che, come anche succede nei centri germinativi degli organi cosidetti linfatici possano prodursi, dalle cellule, analoghe a quelle dei centri germinativi e che si incontrano costantemente nei focolai d'infiltrazione (Pseudoplasmacellule di Hodara).

3° Le plasmacellule, come dipendono o derivano da elementi liberi, così non fabbricano mai sostanza intercellulare, ma restano per lungo tempo nel focolaio di produzione, o come tali, adagiate sovra fibrille di connettivo, ovvero riunite in plasmomi, od ancora prive del loro mantello protoplasmatico sotto forma di elementi simili ai linfociti.

4° L'infiltrazione parvicellulare, è adunque, ancora una volta, da ritenersi di natura istiogene. Gli elementi, che la compongono sono in tutto uguali ai linfociti del circolo, da cui differiscono solo, in quanto non sono prodotti da centri appositamente funzionanti.

5° Lo stato iperemico di un organo agevola in esso lo svolgimento anatomico di un processo flogistico, cronico progressivo con una energia, che si direbbe più viva in principio, sempre meno intensa in progresso di tempo.

Termino con le parole con cui il prof. *Foà* chiudeva una sua memoria su analogo argomento: « Il processo neoformativo ha andamento tipico e costante di cui cessa ben presto il primo impulso perchè i bacilli flogogeni dopo due o tre giorni sono scomparsi, ma continua tuttavia il movimento per un periodo in certo modo, proporzionale all'intensità dello stimolo ».

A me pare di vedere ancora che, dato un decorso per così dire necessario e fatale di un processo, che conduce ai suoi ultimi esiti anche in organi in cui l'eliminazione dell'agente flogogeno è facile e rapido ed in cui si è cercato di indurre speciali e favorevoli condizioni di ambiente, di vedere, dico, che, ogni tentativo, ogni ricorso, che distruggendo od agevolando l'eliminazione dell'agente patogeno voglia prevenire le conseguenze necessarie alla flogosi destata da loro dovrebbe logicamente ed a norma di prove sperimentali ritenersi come superfluo e frustro.

FABRIS A. — Sull'atrofia sperimentale del testicolo.

Le presenti ricerche furono da prima dirette a studiare le alterazi transitorie e definitive della spermatogenesi consecutive a temporan alterazioni di circolo nel testicolo (per lo più ischemia da allacciatu temporanea). Gli animali adoperati furono di preferenza i conigli. In u

prima serie di esperienze gli atti operativi furono eseguiti con l'apertura inguino-scrotale del canale inguinale.

Si ebbe per risultato una più o meno accentuata atrofia del parenchima testicolare, rilevabile talora già dopo pochi giorni dall'atto operativo. In un'altra serie di animali l'operazione venne eseguita per via addominale con laparotomia mediana al fine di ovviare alla difficoltà di reintegrare in modo perfetto la spostabilità e mobilità del testicolo nel canale inguinale e nelle borse scrotali. Anche in questo caso l'esito di una ischemia temporanea, prolungata da 30 minuti primi ad un'ora e mezza, fu l'atrofia più o meno rapida e completa dell'organo.

Seguendo quest'ultimo tecnicismo operativo si praticò in un'altra serie di animali la resezione fra due legature del dotto deferente. Il risultato più frequente fu la mancanza di fatti involutivi nell'organo e la continuazione del normale processo di spermatogenesi anche al di là del terzo mese dalla resezione del deferente (*Ribbert*, *Marassini*). Tale risultamento era costante quando mancavano le note di una qualsiasi reazione flogistica post-operativa nelle vicinanze del testicolo e del cordone e persisteva la normalità dei rapporti e delle condizioni anatomiche delle parti in contatto con il parenchima testicolare e con il funicolo.

In alcuni animali fu tentata le resezione del nervo spermatico (branca genitale del genito-crurale) cercando di ledere al *minimum* la continuità del canale inguinale.

Non è escluso che per difficoltà di ricerca per quanto minuziosa, tale resezione sia rimasta incompleta, certo non fu possibile ottenere una evidente atrofia testicolare come è stato accennato da qualche autore.

In sostanza le presenti ricerche confermano che la legatura e resezione del condotto deferente (resezione che comprende pure piccoli rami arteriosi deferenziali e connettivo, quindi di necessità anche rami del plesso deferenziale) non è sufficiente a portare un'atrofia del testicolo e nemmeno una sospensione del normale processo di spermatogenesi. Tale fatto invece si avvera dopo una sospensione temporanea di circolo arterioso ed in ogni caso quando succedano reazioni flogistiche a tipo fibroso e neoproduttivo nel cordone stesso e fra la superficie esterna del testicolo e le parti vicine.

Poichè la ritenzione del secreto non determina atrofia e la spermatogenesi continua indisturbata, conviene ammettere un attivo processo di riassorbimento per via linfatica, riassorbimento che deve pure esistere in condizioni normali almeno per i prodotti di secrezione interna. È probabile che per il meccanismo di cotesta funzione il testicolo abbia bisogno di trovarsi nelle normali condizioni di posizione e di rapporti. Come pure è supponibile che i processi flogistici a tipo irritativo e neoproduttivo peri-testicolari e funicolari, cagionando alterazioni nel sistema linfatico rispettivo, inducano una imperfezione nell'assorbimento dei prodotti di secrezione interna così da cagionare l'atrofia dell'organo.

Certamente considerata la facilità con cui si ottiene l'atrofia del testicolo operando sul cordone e sulle parti circostanti (anche talora limitandosi al puro atto operativo senza produrre nessuna determinata lesione) riesce difficile di poter aggiudicare al sistema d'innervazione testicolare quella parte che gli può eventualmente spettare nella genesi dell'atrofia.

PARODI U. — Innesto della capsula soprarenale fetale.

L'O. comunica i risultati delle sue ricerche intorno all'innesto della capsula soprarenale fetale. L'innesto della capsula soprarenale adulta venne tentato da molti autori, e con esito parzialmente positivo da *Poll*, da *M. M. Christiani*, dallo *Schmieden*, non venne invece tentato ancora quello della capsula fetale; se eccezione si fa del prof. *Galeotti* che innestò nel rene tessuto capsulare fetale stemperato in soluzione fisiologica di NaCl. Difficoltà varie s'oppongono ad un attecchimento completo della capsula soprarenale in genere. Chè essa consta di due sostanze, delle quali la midollare, è più centrale, quindi meno vascolarizzabile, e per se stessa costituita di elementi assai fini, delicati. Innestando capsula soprarenale fetale io fondavo le mie speranze di attecchimento completo principalmente su due fatti:

1° Un organo naturalmente piccolo e più prontamente vascolarizzabile;

2° In alcune capsule fetali e più specialmente in quelle appartenenti a feti di lunghezza minore (7 cm.) la sostanza corticale non avvolge completamente la midollare, ma questa accompagnando le vene soprarenali si spinge alla periferia occupando di questa un certo tratto assai esteso. Condizione questa assai favorevole ad una buona vascolarizzazione.

Animale usato per le esperienze fu il coniglio di varia età dal giovanissimo all'adulto. I feti di coniglio variarono in lunghezza da 7 a 9-10 cm. L'esame istologico dei singoli innesti che furono compiuti nel rene, nel fegato, nell'ischiatico venne fatto a lasso di tempo variabile da 1-6-10-20-30-50-60-80 giorni. Fissatori usati furono le comuni miscele cromiche ed osmiocromiche. Colorazioni le comuni, ematossilina, eosina e safranina. Le particolarità tecniche e le istologiche verranno descritte nel lavoro completo. Qui enumero soltanto le conclusioni che dalla serie assai numerosa di ricerche posso dedurre:

1° L'innesto omoplastico della capsula fetale (lunghezza fetale 7-9-10 cm.) ha un attecchimento sempre parziale. La sostanza midollare non attecchisce;

2° Al sesto giorno circa, la sostanza corticale conservata inizi suo movimento cariocinetico che continua con maggiore o minore int sità fino al 50° giorno;

3° L'innesto di capsula fetale raggiunto un certo grado di evo.

zione viene in un tempo variato invaso e strozzato dal connettivo che lo circonda;

4° L'innesto di capsula fetale in un ambiente giovane, resiste maggior tempo che l'innesto di capsula fetale in un ambiente adulto;

5° L'innesto di capsula soprarenale fetale si comporta nello stesso modo nel rene, nel fegato e nell'ischiatico.

Discussione.

Su questa comunicazione prende la parola il socio **MORPURGO**.

Adunanza antimeridiana del 7 Ottobre.

Presiede il Prof. **GRIFFINI**.

SACERDOTTI C. — **Risultati di ricerche sul trapianto della ipofisi.**

L'O. ha eseguito sempre trapianti in animali della stessa specie: si è servito di cavie, conigli e ratti albini, fissandosi specialmente su questi. I trapianti sono stati fatti in diversi organi: reni, fegato, tiroide, peritoneo; ma specialmente nel connettivo sottocutaneo. È di questi ultimi che qui riferisce. Il tessuto trapiantato attecchisce abbastanza bene, almeno una zona periferica rimane viva in tutti i casi; generalmente la parte centrale, che si necrotizza, è abbastanza notevole, eccetto che nei casi in cui i pezzetti innestati erano molto piccoli. Giova premettere che nelle ipofisi di ratto si trovano quasi sempre, in condizioni normali elementi in cariocinesi, per quanto molto scarsi, non si può con sicurezza dire se questi stiano in rapporto con un ulteriore sviluppo dell'organo, perchè mancano al proposito ricerche metodiche e di più sono generalmente considerati adulti ratti che ancora possono ingrandire. In ogni modo è certo che nel materiale innestato nella zona rimasta vivente le mitosi sono, già nei primi giorni, più abbondanti che nel materiale di controllo. La porzione necrotica nei successivi giorni va progressivamente riassorbendosi e continua pure la proliferazione nella porzione viva. In questa però si stabiliscono presto anche fenomeni di degenerazione granulo-grassa. Sì che nella porzione attecchita si vedono procedere parallelamente un processo progressivo e un processo regressivo. Quest'ultimo, anzi, prende ben presto il sopravvento, sì che pur continuando fenomeni non dubbi di proliferazione, il pezzo innestato va abbastanza rapidamente riducendosi di volume tanto che dopo 45-60 giorni non rimangono che tracce: ancora dopo 45 giorni, per altro, in un caso si è trovato un elemento in tipica cariocinesi.

Nella porzione viva talora vanno progressivamente diminuendo i caratteri che valgono a differenziare le due specie di cellule della parte ghiandolare dell'ipofisi, talora si notano cordoni di cellule chiare e piccole vicino a cordoni e gruppi di cellule cromaffini. Si osservano abbastanza di frequente delle formazioni cistiche contenenti detriti cellulari, nuclei di leucociti e gocciole adipose, non mai sostanza colloide (che l'O. non ha mai trovato nemmeno nelle ipofisi normali di ratti): queste cisti, quindi, non possono riferirsi a ristagno di un eventuale secreto, ma piuttosto a distruzione e riassorbimento di elementi degenerati.

In un caso, dopo 60 giorni, nel materiale innestato, che era ridotto a piccolissimi gruppi di elementi sopravvissuti, si trovò una piccola cisti microscopica a contenuto sieroso tappezzata da un unico strato di epitelio prismatico, i cui elementi in buona parte erano forniti di lunghe cilia. Evidentemente questa cisti preesisteva nella ipofisi prima del trapianto, perchè cisti perfettamente simili più d'una volta l'O. trovò in ipofisi normali di ratti, e si sa come possano rinvenirsi anche in altri animali (*Weichselbaum* ne trovò nell'uomo) e come debbono riferirsi a residui del dotto bucco-neurico.

Discussione.

CAGNETTO. Chiede al relatore se alcune delle numerose figure di scissione nucleare ch'egli ha trovate nel tessuto ipofisario trapiantato, non si possono interpretare come fenomeni di cariorexi non proliferativa, sieno cioè semplicemente l'espressione di un fatto regressivo, parendogli strana la constatazione che dopo 45 giorni dall'innesto si possano ancora rinnovare in un tessuto, che è destinato alla atrofia e scomparsa, figure cariocinetiche a così gran distanza di tempo dal trapianto.

SACERDOTTI risponde esser certo della natura cariocinetica delle immagini osservate.

PIANESE. — Di alcuni effetti immediati e lontani della splenectomia nella Cavia.

I. — *Effetti immediati e lontani della splenectomia sul peso e sulla lunghezza del corpo, sulla voracità, sull'appetito sessuale, sulla gestazione e sulle prolificità della Cavia.*

1. La splenectomia dei due genitori induce una *diminuzione del peso* e nella *lunghezza del corpo dei nati;* la quale diventa sempre più accentuata di generazione in generazione da splenectomizzati.

La splenectomia della sola femmina non ha alcuna influenza sul pe e sulla lunghezza del corpo dei nati; non così la splenectomia del s maschio, che ne ha una, lievissima.

2. Nelle Cavie normali giovanissime (da 25 a 35 giorni) la splenectomia induce nel *peso del corpo* una diminuzione che aumenta rapidamente fino al 15° giorno dall'operazione, e declina dopo gradatamente per modo che — in media — al 45° giorno la Cavia raggiunge quel peso che avrebbe raggiunto se non fosse stata splenectomizzata.

Nelle Cavie giovanissime da antenati splenectomizzati (Cs_1, Cs_2) (1) ecc. la splenectomia apporta nel peso del corpo una diminuzione che dura minor tempo che nelle Cavie normali — in media fino a 30 giorni — crescendo rapidamente fino al 10° giorno dopo l'operazione, per declinare in seguito gradualmente e raggiungere il normale al 20° giorno.

Nelle Cavie normali adulte – da 7 a 12 mesi — la splenectomia induce nel peso del corpo una diminuzione che dura molto più a lungo — in media fino a 3 mesi — e cresce lentamente fino al 50° giorno, per declinare dopo lentissimamente e tornare al normale dopo 3 mesi.

Le Cn e le Cs_1 splenectomizzate, sieno state operate giovanissime o adulte, raggiunto il loro peso normale dopo la splenectomia, crescono in peso come le non splenectomizzate, quando anche (massime quelle operate giovanissime) non crescono più di queste.

3. La *lunghezza del corpo* delle Cn e delle Cs_1 ecc. diminuisce rapidamente e sensibilmente in seguito alla splenectomia, nè raggiunge più, dopo, quella degli animali di controllo, onde esse appaiono più tozze, e più le Cs_1 ecc. che le Cn. Nelle Cavie adulte però la splenectomia non esercita alcuna influenza decisa sulla lunghezza del corpo.

4. Le Cn e le Cs_1 ecc. splenectomizzate giovanissime sono di molto più voraci delle Cavie intere; e la *voracità* aumenta fino al 3° mese dalla splenectomia, e ritorna normale dopo il 6° mese. Nelle Cavie adulte la splenectomia non influisce o influisce di poco sulla voracità.

5. L'*appetito sessuale* aumenta – sembra — notevolmente nelle Cavie splenectomizzate, sieno esse state private della milza giovanissime o adulte. Pare però che per la splenectomia la virilità del maschio e la fecondità della femmina si esauriscano più per tempo.

6. La *gestazione* decorre normalmente nelle Cn e nelle Cs_1 ecc. splenectomizzate, nè viene interrotta dalla splenectomia quando non sia più innanzi dei 12 a 15 giorni.

(1) Per rendere più rapida la esposizione di questi risultati io indicherò gli animali dei varii gruppi così:

Cn — Cavia normale, o non splenectomizzata; o di controllo;

Cs — Cavia splenectomizzata;

Cs_1 — Cavia nata da genitori splenectomizzati, o Cavia della prima generazione da splenectomizzati;

Cs_1 F — Cavia nata da sola femmina splenectomizzata;

Cs_1 M — Cavia nata solo da maschio splenectomizzato;

Cs_2 — Cavia della seconda generazione da antenati splenectomizzati;

Cs_3 — Cavia della terza generazione da antenati splenectomizzati;

Cs_5 — Cavia della quinta generazione da antenati splenectomizzati.

Spesso però la gestazione dopo la splenectomia finisce in aborto, anche quando dalla splenectomia al concepimento sia trascorso un mese.

7. La *prolificità* delle femmine sembra aumenti in seguito alla splenectomia.

II. — *Effetti immediati e lontani della splenectomia sulla costituzione morfologica e sulle proprietà fisiche del sangue della Cavia.*

1. La splenectomia in nessun periodo di tempo — da 1 a 24 mesi dall'operazione — induce modificazioni nel numero, nella forma, nel volume, nella elasticità, nella consistenza, nella resistenza alla distruzione, nell'isotonia e nella reazione cromatica degli eritrociti; nel numero e nella forma delle piastrine: nella ricchezza dell'emoglobina; apporta però sensibilissime modificazioni nel numero e nel percento delle varie specie di leucociti così della serie mielogena come di quella linfogena; le quali modificazioni sono diverse secondo la qualità della Cavia splenectomizzata, l'età sua nel momento della splenectomia, e il tempo decorso dall'operazione.

2. Il numero dei leucociti aumenta, dopo la splenectomia, sensibilmente e gradatamente dal 1° al 4° mese (fino a 15-20,000 per m. c.) e diminuisce in seguito lentamente e torna quasi normale dopo il 6° mese; però l'iperleucocitosi è più sensibile nella Cs_1 che nella Cn, e più se la Cavia era giovane nel momento dell'operazione.

Dal 6° fino al 18° mese dalla splenectomia il numero dei leucociti si mantiene nei limiti del normale: dopo pare avvenga leucopenia, sebbene di minimo grado.

3. La formula leucocitaria nei primi sei mesi dalla splenectomia è varia secondo l'età della Cavia nel momento della splenectomia e il tempo trascorso dallo smilzamento, nessuna influenza esercitando su di essa la qualità della cavia splenectomizzata (se Cn, o Cs_1, Cs_2 ecc.).

Nelle Cavie smilzate giovanissime in un primo tempo aumentano notevolmente di numero così i leucociti della serie miologena come quelli della serie linfogena: in quelle smilzate adulte crescono di numero prima quelli della serie linfogena, e dopo quelli della serie mielogena.

Nelle Cavie smilzate giovanissime si ha nei primi quattro mesi ossifilia e anfofilia, e quasi contemporaneamente linfocitosi; nelle Cavie smilzate adulte, dapprima linfocitosi, e dopo ossifilia e anfofilia; mentre che nel sangue delle prime si riscontrano delle *Mastzellen*, e in quello delle seconde delle *Plasmazellen*. Dal 4° mese al 6° nelle prime come nelle seconde diminuiscono gradatamente prima i linfociti e dopo gli anfofili, persistendo più tenacemente gli ossifili.

Non è raro riscontrare nel sangue delle une come delle altre qualche leucocito di *Türk*.

III. — *Influenza della splenectomia sulla resistenza della Cavia a invasione blastomicetica* (torula patogena) *e alle infezioni comuni* (enteritis emorragica Caviarum).

1. La resistenza della Cavia, dopo la splenectomia, diminuisce di poco contro le invasioni blastomicetiche ma sensibilmente contro le infezioni comuni.

2. Nell'un caso come nell'altro la resistenza diminuisce in ragione diretta del tempo trascorso dalla splenectomia.

3. Durante la invasione blastomicetica come durante la infezione batterica la formula leucocitaria delle Cavie splenectomizzate non offre alcuna modificazione nè nel numero totale, nè nel percento dei leucociti.

4. Le modalità della diffusione e della localizzazione, e dello sviluppo dei blastomiceti secondo gli organi e tessuti, come anche le caratteristiche lesioni macroscopiche e alterazioni istologiche di questi sono nelle Cavie splenectomizzate in tutto simili a quelle che si riscontrano nelle Cavie intere e che io ho descritte nell'altro mio lavoro « su di una Torula patogena ».

Le ricerche istologiche dei capitoli che seguono non sono per anco complete per tutti i dodici gruppi di Cavie. Finora io ho potuto — e neanche in modo esauriente — condurre a termine soltanto quelle sulle Cavie dei gruppi VII-XII, cioè delle Cavie smilzate da 1 a sei mesi, e però le conclusioni che seguono si riferiscono soltanto a queste, e ai controlli loro.

IV. — *Influenza della splenectomia sulla costituzione morfologica del midollo delle ossa, delle ghiandole linfatiche, dei follicoli dell'intestino, del fegato e del pancreas.*

Nelle *ghiandole linfatiche* i follicoli della corteccia come i cordoni midollari sono iperplastici, e i centri germinali sono ingranditi, e contengono elementi linfoidi in mitosi.

Lo stroma connettivale è piuttosto esile, e come complesso; e anche fra le maglie del tessuto connettivo reticolare che riempie gli spazii cavi limitati dalle trabecole si raccolgono numerosissimi corpuscoli linfoidi. Numerosissimi sono anche i linfociti entro gli stessi seni linfatici.

I *follicoli solitarii* come gli *agminati dell'intestino* sono similmente iperplastici, con centri germinativi molto manifesti, e ricchi di elementi cellulari in mitosi.

Il *fegato* è ingrandito, più pesante, e più ricco in sangue. Le cellule epatiche sono in tutto normali per forma, per volume e per numero di nuclei. I capillari biliari inter- e intracellulari non mostrano alcuna speciale modificazione. In nessun punto e in nessun preparato mi è mai capitato di notare riviviscenza del tessuto mieloide. Negli spazii post-biliari si riscontrano però accumuli notevoli di elementi linfoidi. La cistifellea si riscontra sempre dilatata e distesa da bile spesso così poco colorata, da sembrare acquea.

Nel *pancreas* gli isolotti di *Langerhans* appaiono ingranditi; con capillari sanguigni dilatati e ripieni di eritrociti e di qualche leucocito polinucleare anfofilo e anche ossifilo. I granuli di zimogeno nelle cellule

ghiandolari sono meno numerosi, più piccoli, e si tingono meno decisamente e vivamente con i colori acidi; spesso se ne riscontra qualcuno densamente basofilo.

Ma è il *midollo delle ossa* che presenta le modificazioni più interessanti e caratteristiche. Innanzi tutto esso appare rosso, molle, ricco in sangue, anche quando la Cavia sia adulta, ma smilzata da non più di 4 a 5 mesi. L'apparecchio connettivo vascolare è molto ben sviluppato: il connettivo reticolato manda numerose fibrille esilissime, fra le scarse vescicole adipose; e le vie venose efferenti sono dilatate e ripiene di eritrociti e leucociti granulósi.

Le cellule proprie della midolla giacciono libere fra gli intestizii dell'apparecchio di sostegno e sono molto ricche di granuli. Però, qua e là, si riscontrano raggruppati a formare come isolotti, spesso attorno alla parete esistono dei vasi, elementi cellulari, privi di granuli, in tutto simili ai mononucleari del sangue.

Questi isolotti di tessuto linfoide, nella midolla che si riscontrano più numerosi più la Cavia è giovane e da minor tempo è stata splenectomizzata, costituiscono un reperto molto caratteristico nella splenectomia: è una reviviscenza del tessuto linfoide nel seno del tessuto mieloide, una splenizzazione della midolla ossea, così come — in seguito ad anemie lente, continue — si ha una mielizzazione della milza.

Quanto poi alle varietà dei mielociti va notato che essi sono anfofili, ossifili, ortobasofili e metabasofili; e che aumentato notevolmente è il percento degli ossifili e dei metabasofili (basofili o *Mastzellen* di *Ehrlich*).

Nulla di particolare si riscontra per i corpuscoli rossi (normoblasti, e mononucleati) nè quanto a forma, nè quanto a volume.

I megalocarioeiti di *Howen* sembra aumentino di numero in seguito alla splenectomia; come anche i mielopassi di *Robin*, i quali ultimi si riscontrano anche in animali adulti splenectomizzati.

V. — *Influenza della splenectomia sulla rigenerazione del sangue nelle anemie sperimentali rapide e lente.*

1. Nell'anemia postemorragica grave la vita della Cs è compatibile fino a un numero approssimativo di 2,500,000 eritrociti per cm.; nella Cn fino a un minimo approssimativo di 1,200,000.

Inoltre nella Cs nel primo periodo postemorragico — che dura da 48-56 ore — la cifra delle emazie e dell'emoglobina scende rapidamente e parallelamente: nel secondo — che dura da 5-7 giorni — il numero delle emazie aumenta lentamente mentre la cifra dell'emoglobina resta stazionaria, e nel terzo periodo il numero delle emazie continua ad e' varsi sempre lentissimamente, mentre la cifra dell'emoglobina cre piuttosto rapidamente. Nella Cn invece il primo periodo dura da 24-36 con lenta e graduale discesa nella cifra così delle emazie che dell'e. globina; il secondo periodo dura da 3-4 giorni e contemporaneamen

all'aumento della cifra delle emazie cresce — sebbene lentamente — quella dell'emoglobina: il terzo periodo poi è in tutto simile a quello corrispondente della Cs.

2. Nell'anemia lenta nel sangue della Cs si riscontra: normoblasti nella proporzione di 1 su 1200; qualche gigantoblasto; parecchi corpuscoli di *Nowis*, molti corpuscoli di *Poggi;* parecchi micro e macrociti, qualche poichilocita, alcune emazie a granuli basofili, e qualcuna con degenerazione anemica (policromatofilia); e inoltre una cospicua polinucleosi, e numerose cellule ossifili (fino al 20 °|o).

Nel sangue della Cn invece i normoblasti si riscontrano nella proporzione di 1 su 3000, e più; i gigantoblasti, le emazie a granuli basofili, e quelle policromatofile mancano del tutto; i corpuscoli di *Poggi* sono scarsi; la polinucleosi è appena manifesta e le cellule ossifili sono in numero normale.

3. Il midollo delle ossa nella Cs, qualunque sia la sua età nel momento dell'operazione, è rosso lampone; nella Cn è grigiastro-rossastro; e nella Cs la trasformazione splenoide del midollo è anche più manifesta che nella Cs non anemizzata, mentre non ne esiste traccia in quello della Cn.

VI. — *Influenza della splenectomia sulla formazione del callo nelle fratture traumatiche asettiche della Cavia.*

1. La splenectomia non ha influenza alcuna, nè favorevole nè sfavorevole, sulla rapidità della formazione del callo, e sulla solidità di esso, quando siasi formato.

Nella Cs come nella Cn la somma dei fenomeni che si succedono dalle prime ore dopo la frattura fino al periodo della formazione del callo definitivo si svolgono in 30 a 35 giorni secondo l'età della Cs e della Cn.

2. La splenectomia però ha influenza manifesta sul modo di insorgere e di decorrere e sulla durata di ciascuno dei periodi nei quali può esser diviso tutto il lavorio di riparazione della frattura e che conduce alla costituzione del callo definitivo.

a) Quella che io dico *prima fase, o fase iniziale del primo periodo traumatico di Rigal* e *Vignal* è nella Cs macroscopicamente meno manifesto che nella Cn, e dura anche più a lungo — d'ordinario da 3 a 4 giorni: e lo spostamento dei frammenti è minore nella Cs, come minore è in questa lo scollamento del periostio e l'emorragia interstiziale nella linea di frattura.

b) All'incontro la *seconda fase del primo periodo*, quella della proliferazione attiva degli elementi del canale centrale dell'osso, dei canali di *Hawers* e dello strato profondo del periostio, nella Cs si inizia, è vero, più tardi — dopo il 3° o 4° giorno; ma erompe tumultuariamente e decorre rapidamente e rigogliosamente innanzi fino al 7° giorno; mentre nella Cn questa seconda fase si inizia più per tempo — spesso appena dopo 24 ore — ma decorre più lentamente e — direi più torpidamente; onde al

7° giorno la tumefazione sul loco della frattura nella Cs è maggiore di più che un terzo di quella corrispondente della Cn. Microscopicamente poi in questo periodo di tempo si riscontra che nella Cs gli elementi cellulari così del canale midollare come dello strato profondo del periostio, mostrano una attiva proliferazione; mentre che nella Cn sono essenzialmente in lussureggiante mitosi gli elementi cellulari della midolla periostale di *Ranvier*.

c) La *prima fase del secondo periodo*, cioè la trasformazione cartilaginea e consecutivo infiltramento del callo periferico, accade nella Cs più lentamente che nella Cn, e più lentamente ancora succede in quella la seconda fase del secondo periodo, il lavorio cioè di vera ossificazione del callo periferico; poichè mentre nella Cn il callo periferico è completamente organizzato al 20° giorno dalla frattura, nella Cs l'organizzazione del callo periferico non può dirsi completa che al 24° giorno.

d) All'incontro la organizzazione del callo midollare — trasformazione cartilaginea, infiltramento calcareo e lavorio di ossificazione — si inizia e si espleta nelle Cs più rapidamente che nella Cn.

e) Il *terzo periodo* poi — della formazione del callo definitivo — decorre nella Cs in tutto simile a quello di Cn; forse il processo di osteite rarefacente prima e di osteite ossificante dopo decorre più rapido nella Cs che nella Cn.

3. Nessuna modificazione, dopo il 5° mese dalla frattura, si osserva nel callo così della Cs come della Cn; e nel callo definitivo della prima come in quello della seconda non si riscontrano mai fibre arciformi.

Discussione.

BANTI accenna ad alcune ricerche sull'ematologia degli animali smilzati eseguite nel suo laboratorio (Vedi pag. 802 la comunicazione dei dottori *Azzurrini* e *Massart*).

TIBERTI dice che egli non ha mai trovato variazioni nel pancreas degli animali smilzati; nota però che ha operato in cani e non in cavie come il relatore.

Il PRESIDENTE propone, per desiderio espresso da vari soci, che si interrompa la serie delle comunicazioni scientifiche per discutere alcune questioni relative alla Società secondo il seguente

ORDINE DEL GIORNO:

I. Congresso per l'anno 1905.

Proposte:

II. Quota annuale per il 1905.
III. Nomina di un cassiere provvisorio.
IV. Pubblicazione del resoconto del Congresso.

Sul primo articolo dell'ordine del giorno il prof. FOÀ fa notare che molti desiderano siano spostate le riunioni alla primavera, stagione più comoda anche per le occupazioni scolastiche che l'autunno. Dovendo perciò nel 1904 spostare la riunione si verrebbe a dover fare un terzo Congresso a pochi mesi di distanza dall'attuale; propone perciò si vada direttamente alla primavera del 1905. Fa poi notare che nel 1905 ha luogo l'Esposizione a Milano e accenna all'esistenza in questa città di un comitato di medici che si occupa di far riunire in Milano tutti i Congressi che in quell'anno dovrebbero aver luogo. Niente di più naturale perciò che stabilire Milano sede della prossima riunione.

Accenna anche alla possibilità, sebbene lontana, di far sì che abbia luogo a Milano la riunione annua della Società Tedesca di Patologia e di poter così avere un Congresso internazionale di Patologia formandone come centro la Società Italiano-Tedesca di Patologia.

Per ottenere questo scopo sono necessarie lunghe e delicate trattative, propone perciò che si dia mandato di fiducia a due o più soci del Nord come più vicini per avviare e mandare a termine queste trattative. Egli formula quindi la proposta nel seguente modo:

Stabilire la primavera del 1905 come tempo per la prossima riunione; Milano come sede e che si dia mandato di fiducia a due soci per cercare di ottenere il concorso della Società Tedesca di Patologia.

Su queste proposte prendono la parola per domandare schiarimenti e per darne i soci POLVERINI, GUARNIERI, MORPURGO, GOLGI, BANTI e infine viene votato e approvato all'unanimità:

1° che la prossima riunione abbia luogo a Milano nella primavera del 1895;

2° che si facciano pratiche per avere in quell'anno una riunione internazionale dei Patologi;

3° che per tutte le pratiche necessarie si dia mandato di piena fiducia ai professori *Foà* e *Golgi*.

Passando al 2° articolo dell'ordine del giorno viene approvato che per il solo anno 1905, in vista della maggiore importanza che può assumere la riunione della Società per il concorso dei patologi stranieri, la quota sociale sia portata a *lire dieci*.

Viene quindi approvata ad unanimità la nomina a Cassiere provvisorio da ora al prossimo Congresso del dott. *Polverini*.

Come ultima parte dell'ordine del giorno viene discussa ed approvata la pubblicazione del resoconto del presente Congresso sotto forma di Bullettino nel Giornale *Lo Sperimentale*, che si presta senza alcuna spesa.

Esaurita così la discussione degli interessi della Società si riprende la lettura delle comunicazioni scientifiche.

BARONCINI E. e GIACOMETTI M. — Risultati preliminari di nuove ricerche sul siero neurotossico.

Le conclusioni degli OO. sono le seguenti:

1° Tanto i conigli quanto le cavie, e quelli più di queste, tollerano bene l'iniezione endocerebrale di quantità anche notevoli di siero di gatto normale, purchè sia fatta lentamente. I disturbi presentati dagli animali così iniettati furono di poca o nessuna entità e fugaci.

2° Il siero di gatti che han ricevuto un numero sufficiente di iniezioni endoperitoneali di sistema nervoso di conigli e di cavie, iniettato nel cervello di questi animali, ha la proprietà di determinare rispettivamente in essi, a dosi abbastanza piccole, un insieme di disturbi che conducono quasi sempre alla morte e che pei loro caratteri non si possono riferire che a lesioni dei centri nervosi.

3° I disturbi presentati dagli animali si mostrarono d'intensità proporzionale alla quantità di siero iniettato, e al grado maggiore o minore di trattamento subito dall'animale fornitore.

4° Il siero fortemente neurotossico per il coniglio è quasi senza azione sulle cavie.

5° La proprietà tossica del siero preparato è dovuta ad una sostanza che ha i caratteri delle comuni citotossine, poichè riscaldando il siero a 55° esso diviene inattivo per distruzione della parte alessinica, mentre ridiventa attivo, qualora, vi si aggiunga anche una piccola quantità di siero normale che contiene le alessine.

Adunanza pomeridiana del 7 Ottobre.

Presiede il Prof. **A. MONTI.**

NEGRI A. — Sull'eziologia della rabbia.

L'O. comunica i resultati delle sue osservazioni sull'eziologia della rabbia, risultati che dall'A. sono stati esposti nella particolarità alla Società medica di Pavia, in due note apparse nei decorsi mesi di marzo e luglio. Da queste ricerche risulta che nel sistema nervoso degli animali idrofobi esiste costantemente, date certe condizioni, uno speciale microrganismo da ascriversi tra i protozoi; questo microrganismo si riscontra soltanto nell'infezione rabica, e, secondo l'A., deve ritenersi l'agente specifico della malattia.

Il materiale migliore per lo studio del nuovo protozoo patogeno fornito dal cane; per la tecnica della ricerca, se il metodo del *Ma* differenzia squisitamente il parassita esso può essere messo in evidenza anche con altri metodi noti: immagini assai convincenti e dimostrati

si ottengono anche dall'esame a fresco di quelle parti del sistema nervoso che sono la sede di predilezione del parassita nelle sue forme endocellulari più sviluppate. Data nel cane l'infezione endocranica, una durata complessiva della malattia di 12-13, meglio ancora di 15-16 giorni e che l'animale abbia presentato il quadro della rabbia furiosa, una delle regioni del sistema nervoso nelle quali di solito si riscontra il microrganismo più abbondantemente e nelle sue forme più sviluppate è il corno d'Ammone.

Il parassita risiede nell'interno delle cellule nervose, senza alcuna regola pel riguardo al numero delle singole cellule. Per le dimensioni, da forme parassitarie di dimensioni notevoli 20-25 μ di massimo diametro, si passa gradatamente attraverso tutta una serie di forme a diametri insensibilmente decrescenti, a parassiti di dimensioni minime, del diametro inferiore a 1 μ, che soltanto con grande fatica si possono riconoscere, e differenziare da eventuali prodotti granulari del tessuto.

Anche la forma del microrganismo può essere varia, rotonda, elittica, ovale, grossolanamente triangolare ad angoli arrotondati: essa è in rapporto con la posizione che il protozoo occupa nella cellula o nei suoi prolungamenti. Caratteristica è la fine struttura interna del microrganismo, che, nelle linee generali, è costante, qualunqne siano la sua forma o le sue dimensioni: esso lascia sempre riconoscere nel suo interno delle particolari formazioni che si possono riunire in due categorie: corpicciuoli rotondi, piccoli, rifrangenti; corpi grossi, finamente granulosi, poco rifrangenti. Sul significato di queste formazioni l'A. crede di doversi ancora mantenere in riserbo. Oltre che nelle cellule nervose del corno di Ammone le forme endocellulari del parassita risiedono anche nelle cellule delle altri parti del sistema nervoso: si riscontrano infatti, sebbene non raggiungano mai i diametri ragguardevoli che si trovano nel corno di Ammone, nelle cellule di *Purkinje* del cervelletto, in quelle della corteccia cerebrale, del ponte, del midollo allungato, dei gangli spinali, del midollo spinale.

La stessa distribuzione del parassita, nei suoi stati endocellulari, si ha, nelle linee generali uguale, anche se il cane è stato infettato per via endooculare, o per le mucose congiuntivali o nasali, o per la via del N. mediano. Negli animali resi sperimentalmente idrofobi con questi metodi d'infezione, l'Autore ha sempre avuto un quadro di rabbia furiosa.

Nei cani infettati nel nervo ischiatico la distribuzione delle forme endocellulari del parassita può essere diversa. Si riscontrano nelle cellule nervose dei gangli spinali e del midollo spinale, in quelle delle diverse regioni dell'encefalo possono mancare, se vi si trovano sono poco numerose e poco sviluppate. In questi animali l'A. ha avuto sempre finora un quadro di rabbia paralitica. Oltre che nel cane rabbioso, il microrganismo si può mettere in evidenza negli altri mammiferi resi spe-

rimentalmente idrofobi: sempre con le stesse proprietà, la stessa distribuzione, la caratteristica struttura interna. Nel coniglio però le forme parassitarie sono di solito piccole: in questa specie inoltre, per avere un reperto abbondante di forme relativamente sviluppate nelle sedi di predilezione occorre una durata totale della malattia alquanto più lunga che nel cane (15-16 giorni).

Dopo di aver ricordato che, parallelamente alle note proprietà del virus rabico, di mantenere la virulenza malgrado l'avanzata putrefazione o l'immersione nella glicerina, il microrganismo da lui descritto conserva inalterata la forma e le sue proprietà, malgrado l'avanzata putrefazione, malgrado il lungo soggiorno nella glicerina; dopo di aver fatto rilevare che al primo comparire dei sintomi compaiono nel cane come nel coniglio, le forme endocellulari del parassita, l'A. passa ad esporre una utile applicazione pratica che possono avere le sue ricerche. Egli ha potuto esaminare parti del sistema nervoso in 88 animali sospetti idrofobi, che a vari Istituti antirabbici erano stati mandati per l'accertamento della malattia; e dal risultato delle sue ricerche è condotto alla conclusione che, d'ora innanzi, adottando il metodo della ricerca del parassita specifico, si potrà facilmente, nella massima parte dei casi, stabilire con rapidità la diagnosi quando esiste realmente l'infezione, perchè, quasi senza eccezione, si potranno mettere in evidenza forme endocellulari tipiche del microrganismo. Nella massima parte dei casi questa diagnosi rapida e sicura sarà possibile colla sola ricerca delle forme endocellulari del parassita nel corno d'Ammone. L'A. non esita a proporre che questo metodo, che si potrà eseguire anche su pezzi in avanzata putrefazione, venga adottato nella pratica, allorquando si tratta di decidere sollecitamente se un animale che ha morsicato persone, presenta o no un eventuale pericolo di aver trasmesso l'infezione rabica.

Discussione.

FOÀ P. crede far cosa grata ai colleghi comunicando i resultati ottenuti su questo argomento dai Dott. *Volpino*, *Bertarelli* e *Heller*.

VOLPINO G. — *Sulla diagnosi istologica della rabbia.*

In 40 casi di animali sospetti di rabbia l'A. ha ricercato nei centri nervosi i corpi del *Negri*, ed ha constatato la loro presenza in tutti i casi in cui la prova biologica dette resultato positivo, e la loro assenza in tutti i casi in cui la prova biologica fu negativa. Perciò egli pure considera la ricerca di questi corpi come un mezzo di diagnosi rapido e sicuro; e consiglia per mettere rapidamente in evidenza i detti corpi: 1° le [illegible] dilacerazioni in glicerina del tessuto tenuto per 24 ore nell'alcool al te[illegible] 2° le sezioni col rasoio a mano libera di pezzetti piccolissimi tenuti [illegible] l'acido osmico per qualche ora e tenuti nell'alcool per 24 ore. Quanto [illegible] colorazioni l'A. ha trovato che nei pezzi fissati in sublimato o in *Zenk*

corpi del *Negri* si mettono bene in evidenza anche colla doppia colorazione eosina-bleu di metilene.

L'A. inoltre ha eseguito alcune speciali ricerche sui corpi del *Negri* ed ha trovato che essi resistono bene alle diverse diluizioni dell'acido acetico, meno bene nella potassa al 33 % dove si rigonfiano e perdono la loro struttura; e che sono molti ricchi di composti fosforati più di qualunque parte della cellula nervosa. Con la colorazione all'ematossilina fenica ha potuto mettere in rilievo alcune particolarità di struttura dei corpi del *Negri*, fin'ora sfuggite agli altri osservatori; ma nè con questo nè con altri metodi, per quanto si sia messo nelle più svariate condizioni di esperimento, non è riuscito a osservare quelle trasformazioni del protoplasma e del nucleo, che portano alla schizogonia negli Sporozoari.

BERTARELLI. — *Sui rapporti tra le modificazioni morfologiche dei corpi di Negri e le modificazioni di virulenza del virus rabico.*

È nota l'obiezione sollevata dalla *Foà* sulla natura parassitaria dei cytorictes: cioè facendo sottostare il vaccino ad alcuni trattamenti, i cytorictes si alterano profondamente prima che si alteri l'infettività.

Negri pei suoi corpi aveva già detto che resistono alla putrefazione: però non eran state fatte ricerche sistematiche sull'argomento.

L'A. ha sottoposto virus fisso — di strada — di passaggio a numerosi agenti fisici (essiccamento, putrefazione, calor umido, raggi solari, ecc.), studiando e l'infettività del virus e le modificazioni dei corpi di *Negri*.

Or bene, dal raffronto tra le ricerche morfologiche e biologiche, deriva che pei corpi di *Negri* l'obbiezione sollevata pei cytorictes non regge. I corpi di *Negri* non solo sono più resistenti degli elementi nervosi ai varii trattamenti: ma talora essi si vedono bene, anche se la virulenza è scomparsa.

Con alcuni trattamenti (essiccamenti) cui si alterano, sono però ancora differenziabili anche a virulenza spenta.

Ciò non è una prova di valore per la natura parassitaria: però permette di escludere una grossolana obbiezione contro tale natura.

Dice poi che su 26 animali rabidi sperimentati il reperto di *Negri* fu costantemente positivo.

BERTARELLI e VOLPINO. — *Ricerche sulla rabbia.*

Gli AA., hanno intrapreso e in parte comunicato delle ricerche sulla coltivabilità del virus rabico nei tronchi nervosi isolati, sulle filtrazioni ecc.

Per quanto ha più diretto interesse cogli studii attuali sulla rabbia, essi hanno osservato:

1° Con candele Chamberland (F) *Kitasato*, *Silberschmidt*, piccole candele di laboratorio, non sono mai riusciti ad ottenere — anche con pressioni di 8 atm. — il passaggio del virus rabico.

2° Con candela Berkefeld e con carbone i risultati incostanti sono oggetto di riprova; non possono quindi dare ora una conclusione certa.

3° Con filtri di carta hanno osservato: che con tripli filtri (della comune carta a pori fini) si impedisce il passaggio del virus di strada, mentre invece il virus fisso passa costantemente (operando senza pressione).

Ciò depone per una probabile maggiore grossezza dei parassiti del virus di strada. (Nelle esperienze lo spappolamento era uniforme nelle varie prove, e sempre fu fatto con sabbia fine).

Con queste prove di filtrazione per carta gli AA. hanno anche ottenuto la dimostrazione che l'attenuazione del virus rabido è data da diminuzione numerica dei parassiti: ed in fatti i virus filtrati (che hanno perso dei parassiti nella filtrazione, e che non possono essersi attenuati per altra via poichè mantenuti al riparo della luce, dell'essiccamento ecc.) si comportano da virus attenuati.

Le filtrazioni della saliva del cane rabbioso, con candela Chamberland F, non danno un liquido virulento.

Le inoculazioni di virus fisso o di passaggio nella ghiandola sottomascellare del cane, non danno trasmissione della rabbia ai centri, almeno se non si usano notevoli quantità di materiale.

La cosa può parere strana pensando alla via inversa di trasmissione e forse giustifica l'ipotesi di uno special ciclo vitale del parassita nella ghiandola.

Le ricerche sono ora iniziate per risolvere la quistione e per vedere come il virus arrivi alla ghiandola.

BERTARELLI ed HELLER. — *Sulle sostanze tossiche rabiche.*

Gli AA. hanno cercato a Berna di isolare delle sostanze tossiche peculiari dei centri nervosi di conigli rabidi.

Per diverse vie hanno avuto risultati negativi: solo colla macchina a pressione di *Buchner* e con pressioni di 200-250 atm, hanno isolato un materiale — che stanno studiando — dotato di forti proprietà eccitanti e successivamente paralizzanti, notevolmente diverso per azione dal materiale ottenuto con sistemi nervosi di conigli normali.

In alcuni animali ottennero anche paralisi a lento decorso.

FOÀ P. accenna anche ai risultati sulla filtrazione del virus rabico ottenuti dallo *Schüder* e pubblicati in questi ultimi giorni nella *Deutsche Med. Woch*, No. 39.

CELLI. Ha esso pure praticate delle ricerche nel laboratorio dell'istituto antirabico di Roma. Ha esaminati tre cani e un gatto tutti e quattro certamente rabbiosi secondo il reperto sperimentale dei conigli inoculati; in due di questi cani e nel gatto si trovarono nelle cellule del corno di Ammone forme piccolissime intracellulari che potrebbero essere i corpi di *Negri*.

Il cane che fu esaminato con reperto negativo era morto di ra furiosa a Porta Portese. Le inoculazioni praticate con questo cane coniglio ne provocarono la morte per rabbia paralitica in 16 giorni.

Ha avuto anche l'occasione di esaminare i centri nervosi di un uomo morto di rabbia a Sant'Antonio il 10 giugno: il 12 furono inoculati tre conigli, uno morì dopo 20 e l'altro dopo 22 giorni di rabbia paralitica, il terzo sopravvisse. Furono esaminati dopo fissazione colorando il metodo del *Mann* il corno d'Ammone, il bulbo, i lobi frontale e occipitale, il midollo spinale, e il reperto fu negativo.

Ha fatto poi delle esperienze sulla filtrabilità.

CELLI A. e DE BLASI D. — *Il virus rabico è filtrabile?*

Da vari mesi ci occupiamo di tale questione: i nostri primi esperimenti in proposito rimontano al 27 dicembre 1902 e d'allora in poi li continuammo senza interruzione.

Facemmo due ordini di esperienze, cioè col virus fisso e col virus di strada. Il cervello e il midollo venivano spappolati e mescolati intimamente con sabbia finissima, e poi sottoposti al torchio di *Buchner* a 300 atmosfere. Il succo spremuto, che quand'era troppo scarso o troppo denso fu diluito in varia misura con acqua distillata e sterilizzata, veniva inquinato con qualche ansa di agarcoltura fresca di *B. fluorescens*, e poi filtrato attraverso piccole candele ordinarie di *Berkefeld* a temperatura della camera e sotto la pressione di — 570 mm., prodotta da una pompa aspirante a caduta d'acqua. La durata della filtrazione fu sempre breve (da mezz'ora a poche ore). Furono sempre adoperate candele nuove, la cui integrità veniva prima saggiata mediante insufflazione di aria. I filtrati ottenuti non lasciavano nulla vedere al microscopio, e in vari terreni nutritivi rimasero sterili.

L'inoculazione di 1|4 a 1|2 cc. del filtrato, fu eseguita sempre sotto la dura madre tanto nei cani quanto nei conigli.

Ecco brevemente i nostri risultati complessivi:

1. Quasi tutti gli animali che inoculammo col filtrato del virus fisso o di strada sono morti. Di 23 conigli così inoculati ne sopravvivono soli 3, di 4 cani non ne sopravvive alcuno.

2. Fra 20 conigli che morirono in primo tempo o tardivamente, senza mostrare alterazioni manifeste, nè in vita, nè all'autopsia, 5 morirono dopo un periodo medio di incubazione (14-40 giorni) e dopo aver presentato dimagramento graduale, paralisi o di breve durata o per 1-2 giorni.

3. L'emulsione del bulbo di questi ultimi conigli fu inoculata, per accertar la diagnosi, in altri conigli. Su 17 di questi animali inoculati in primo passaggio ne morirono 12; su 12 inoculati negli ulteriori passaggi ne morirono 10; ma solo alcuni di tutti questi animali presentarono i fenomeni della rabbia paralitica.

4. I 4 cani inoculati col virus di strada filtrato son morti con dimagramento progressivo e tristezza, rispettivamente dopo 19, 26, 31, 88 giorni.

Di tutte le nostre esperienze riportiamo la serie seguente:

Il 23 marzo 1903 furono inoculati sotto la dura madre tre conigli con virus di strada filtrato. Due morirono in primo tempo (dopo 4-5 giorni). Uno dimagrò notevolmente e in 12ª giornata cominciò a mostrarsi in uno stato di abbattimento e di tristezza; in 14ª giornata presentò fenomeni paralitici di breve durata e morì.

Nel primo passaggio coll'emulsione del bulbo, per l'accertamento diagnostico (7 aprile 1903), uno dei due conigli morì dopo 10 giorni senza paralisi; l'altro presentò dopo 16 giorni paralisi del treno posteriore, che estendendosi durò circa 24 ore; l'animale morì in 17ª giornata.

Due dei tre conigli inoculati in secondo passaggio (26 aprile 1903 morirono dopo 10-22 giorni senza paralisi; il terzo presentò, dopo una inoculazione di 23 giorni, fenomeni paralitici del treno posteriore che si andarono estendendo nei due giorni successivi; l'animale morì in 25ª giornata.

Tutti e tre i conigli inoculati in terzo passaggio (20 maggio 1903) con l'emulsione del bulbo di quest'ultimo coniglio presentavano contemporaneamente in 13ª giornata fenomeni paralitici netti e caratteristici, e con differenza di poche ore l'uno dall'altro morirono in 14ª giornata.

Negli animali morti senza fenomeni di rabbia all'autopsia non si rilevò alcuna lesione, e con le colture del sangue e degli organi non si mise in rilievo alcun batterio patogeno, al di fuori del B. coli.

Furono più specialmente i risultati di questa serie di esperienze che indussero uno di noi (1) a pubblicare fin dal passato giugno che il virus rabbico potesse comportarsi come un virus filtrabile: e ora possiamo aggiungere che essi corrispondono a quanto altri han trovato quasi contemporaneamente a noi e con metodi più o meno diversi.

Remlinger e *Riffat-bey* (2) usarono candele Berkefeld V., certamente più permeabili delle Berkefeld comuni, e filtrarono, come noi, sotto l'aspirazione di una pompa a caduta d'acqua. Su 29 conigli inoculati col virus filtrato si ebbero solo 11 morti di rabbia dopo un periodo di incubazione sempre prolungato.

Il *Di Vestea* (3) in alcune esperienze adoperò come noi le candele Berkefeld comuni, ma forzò la filtrazione mediante la pressione di 2-6 atmosfere; e tuttavia ebbe risultati positivi 4 volte su 6: in un'altra serie di esperienze con le candele Chamberland F. i risultati positivi furono anche più scarsi.

Infine lo *Schüder* (4) ha usato candele che finora non indica: i ri-

---

(1) Manuale dell'Ufficiale sanitario, seconda ediz., disp. II, pag. 1[illegible]
(2) C. R. Soc. de Biologie, tome V, 19 giugno e 17 luglio 1903.
(3) Accademia medica di Pisa, 28 giugno 1903.
(4) Deutsche Med. Woch., n. 39, 24 settembre 1903.

sultati da lui ottenuti sarebbero più costanti, il che forse è dovuto alla maggiore permeabilità delle candele da lui adoperate.

Le nostre esperienze adunque in *rapporto al metodo usato* differiscono da quelle di tutti gli altri autori perchè noi adoperammo per la estrazione preliminare del succo del cervello il torchio di *Buchner*, e perciò non sempre dovemmo diluire l'emulsione prima di filtrarla; da quelle di *Remlinger* e *Riffat-bey* e forse di *Schüder* perchè adoperammo candele meno porose; da quelle del *Di Vestea* perchè non adoperammo la pressione per ottenere il filtrato: *in rapporto coi risultati ottenuti* si accordano con quelle di *Remlinger* e *Riffat-bey* e del *Di Vestea* perchè solo alcuni degli animali anche di una stessa serie sperimentale ammalarono coi sintomi propri della rabbia dopo un periodo d'incubazione prolungato, mentre d'accordo con le esperienze di *Schüder*, nella nostra sopracitata serie il periodo d'incubazione non si prolungò (col virus di strada filtrato fu di 14 giorni, con lo stesso virus non filtrato fu di 13 giorni); differiscono, forse, da tutte le altre per l'altissima proporzione di animali (conigli e cani) che, dopo inoculati col virus filtrato, morirono in un tempo variabile senza manifesti segni di rabbia, e senza che all'autopsia e con le colture si potesse trovare la causa di morte; tantochè si verrebbe a pensare a qualche sostanza tossica solubile e filtrabile.

Certo la filtrabilità del virus rabbico deve essere ancora determinata con mezzi più precisi, cioè meno empirici e più uniformi. Noi intanto riferiamo le nostre osservazioni perchè concorrono a dimostrare che il *virus rabbico in date circostanze è filtrabile* attraverso a materiali porosi che non lasciano passare batteri come il *fluorescens*.

Il che però non induce affatto a credere senz'altro, come sostiene lo *Schüder*, che i corpi di *Negri* non possano essere dei protozoi: il ciclo di sviluppo di questi esseri, come già fece notare il *Di Vestea*, è sempre più o meno complesso, e potrebbero benissimo farne parte delle forme anche più piccole di quelle già piccolissime, fino a 1μ che il *Negri* ha descritto.

CELLI. Ha tentato anche la trasmissibilità della rabbia per mezzo della inoculazione delle ghiandole salivari sottomascellari e in un caso ha avuta la trasmissione della rabbia al coniglio.

CAGNETTO. Osserva come il fatto della incostante filtrabilità del virus rabico attraverso alle candele, già accennato da *Remlinger* e confermato poco fa dal *Celli*, non ci deve rendere riluttanti nell'attribuire al fenomeno tutta la considerazione che merita.

Infatti la filtrabilità di un virus non dipende solo dalla grossezza degli elementi che lo costituiscono e dalla permeabilità maggiore o minore della candela che si adopera, ma dipende da altri fattori, quali la pressione a cui si ottiene il filtrato, la durata del periodo di filtrazione e la stessa temperatura dell'ambiente ove si esperimenta, fattori tutti che possono variare da esperienza a esperienza.

GUARNIERI. Ha fatto delle ricerche nel suo laboratorio in relazione alla scoperta del *Negri* ed è riuscito a vedere i corpi intracellulari descritti dall'A., non è riuscito a vederne la struttura minuta.

Ha fatte anche esperienze sulla filtrabilità del virus rabbico e deve dire che non passa affatto per la candela di *Kitasato*, per quanto sia stata fatta una diluzione assai forte.

Non passa nemmeno attraverso ad una candela *Chamberland*.

Praticando dei tentativi di filtrazione attraverso a triplice filtro ha ottenuto il passaggio due volte su sei.

CENTANNI. Si è occupato ripetutamente della filtrazione del virus rabido e interpretando l'infiltrabilità del virus nella comune emulsione dall'essere il parassita incluso nei costituenti insolubili della cellula nervosa, ha sottoposto il sistema nervoso rabido a vari solventi: germi (*fluorescens liquefacens*), putrefazione, digestione pepsinica, autolisi, lunga triturazione meccanica. Il virus in questo materiale è risultato colle comuni candele parimenti infiltrabile. Preparando una serie di candele *Berkefeld* progressivamente assottigliate, ha visto che coincide approssimativamente il limite in cui si ottiene un liquido attivo, col limite in cui cominciano a passare i comuni batteri. In condizioni favorevoli, quali emulsioni poco inquinate e filtrazione rapida, si ottiene, ma sempre eccezionalmente, un liquido virulento e asettico; alla cultura in condizioni opposte colla stessa candela passano anche i germi inquinanti. Si dovrebbe perciò concludere o il virus rabido ha le dimenzioni medie dei batteri, oppure, che essendo più piccolo, trovasi ancora impigliato in parti cellulari difficilmente filtrabili.

NEGRI sente il dovere di rivolgere anzitutto espressioni di viva riconoscenza al prof. *Guarnieri*, che, con la sua autorevole parola, ha voluto portare una piena conferma ai risultati ora esposti: lo ringrazia di questo e delle gentili espressioni a lui rivolte. È grato al professore *Foà*, che ha reso noto, in appoggio a queste conclusioni, i risultati delle ricerche degli egregi dottori *Bertarelli* e *Volpino*. È lieto di constatare che gli egregi dottori *Bertarelli* e *Volpino* hanno ora tenuto conto della sua raccomandazione, di servirsi del cane come materiale di ricerca. Rileva con compiacimento come le conclusioni alle quali pervengono questi osservatori sul valore della ricerca del parassita dal punto di vista della diagnosi rapida della rabbia, collimino perfettamente e confermino quanto egli ha potuto dimostrare su di un abbondante materiale di studio. Nel mentre ringrazia il prof. *Celli* per il suo importante contributo, deve far rilevare che nei due casi di rabbia riferiti dal prof. *Celli* (uno di rabbia umana, l'altro di un cane) nei quali la ricerca delle forme endocellulari del parassita fu negativa, lo studio del sistema nervoso incompleto e parecchie regioni importanti vennero trascurate.

In quanto alle esperienze sulla filtrazione del virus rabido attraverso alla candela, per rispondere ai diversi oratori, il dott. *N*

crede opportuno soltanto di ricordare quanto egli ha di già riferito e scritto. Egli finora si è soltanto occupato di quelle forme del parassita che si sviluppano entro la cellula nervosa. Tra queste, da forme di dimensioni notevoli si passa gradatamente a forme di diametri minimi, frazioni di μ, sicuramente riconoscibili anche per il criterio della loro posizione endocellulare. Le forme extracellulari del parassita sono ancora ignote, ma tutto porta a ritenere che esse pure posseggano diametri estremamente piccoli. Dato questo, nulla di strano che le forme più piccole possano talvolta passare attraverso i pori della porcellana, e che quindi il filtrato iniettato negli animali possa riprodurre la malattia col suo quadro classico. Non vede nessuna contraddizione tra queste esperienze e il reperto morfologico che porta alla convinzione che il microrganismo messo in evidenza è l'agente specifico dell'infezione.

CASTELLANI A. — La malattia del sonno.

Fino dai primi anni del secolo passato i missionari narravano di una strana malattia, che in alcune regioni del Congo mieteva numerose vittime: gl'indigeni la chiamavano *m'ntansi* che vuol dire *dormire*.

La malattia del sonno è rimasta per lungo tempo limitata ai bacini del Congo, del Senegal e del Niger. Recentemente è penetrata nella Regione dei grandi laghi, ove si è estesa con grande rapidità, prendendo un andamento epidemico spaventoso, tanto che alcune provincie dell'Uganda sono state completamente spopolate.

Non sarà fuor di luogo il dare alcuni cenni sulla sintomatologia del morbo, giacchè per esperienza personale mi sono dovuto convincere che le descrizioni datene dai trattati di medicina tropicale, basate su pochissime osservazioni o su notizie raccolte da Missionari, sono molto inesatte.

Nella malattia si possono distinguere tre periodi. Nel primo non si han sintomi molto appariscenti: qualche po' di abbattimento, facile esauribilità, svogliatezza al lavoro. Le condizioni generali si mantengono floride, tanto che un profano non potrebbe credere di avere dinanzi a sè un malato. Mi rammento di un povero ragazzo negro, maltrattato e battuto lungo tempo dal suo padrone europeo per pigrizia: il misero ragazzo si trovava realmente nel primo stadio del male: esso morì di lì a pochi mesi nel mio ospedale.

Un sintoma che è sfuggito a molti osservatori e che è quasi costante anche in questo periodo, è la febbre — che è a tipo intermittente o fortemente remittente.

Il secondo periodo si potrebbe chiamare dal sintoma più caratteristico, periodo del tremore. Il tremore si osserva quasi sempre nella lingua, si ha abbastanza spesso anche nelle mani e qualche volta si generalizza a tutta la persona.

È in questo periodo che la fisionomia del malato, prende un'espressione speciale, intontita, atteggiata a stupore. Le condizioni generali decadono rapidamente: dimagramento marcato, la pelle perde la bella lucidità che ha nei negri, diventa ruvida, si copre di eruzioni prurigi-nose; i capelli si fanno secchi, rigidi, traenti al rossastro.

Si nota in quasi tutti i casi, come del resto anche nel 1° periodo, che la milza è dura ed ingrandita. Esiste anche un ingrossamento di molti pacchi ghiandolari superficiali; a questi due fatti si dà nei trattati di medicina tropicale molta importanza: è probabile però che non sieno da mettersi in relazione col morbo: in Uganda il *Low* ed io abbiamo trovato le ghiandole linfatiche superficiali ingrossate nell'80 % degli individui normali; anche la milza è spesso ingrandita e dura, in causa certamente di ripetuta infezione malarica.

Il sangue non presenta gran che di anormale per la globulimetria ed il tasso emoglobinico; si nota spesso un certo grado di eosinofilia dovuto probabilmente ai molti elminti che questi malati, come del resto quasi tutti gli indigeni, albergano.

Durante tutto il secondo periodo che dura per lo più dai tre ai sei mesi, la febbre manca raramente; ha al solito un tipo intermittente o fortemente remittente. Il polso è frequente ed irregolare.

Nel terzo periodo che dura 2-4 settimane la febbre cade, la temperatura anzi rimane subnormale. I malati appaiono addirittura ischeletriti; si ricoprono alcune volte di larghe e profonde piaghe. Non hanno più la forza di muoversi e giacciono in stato di semisopore. La morte avviene in coma o in uno stato convulsivo generalizzato.

Tutto compreso la malattia dura dai 6 ai 18 mesi e termina sempre fatalmente.

Anatomia patologica. — Macroscopicamente vi è ben poco da osservare se se ne eccettui spesso una iniezione generale dei vasi meningei, un opacamento leggero della pia meninge e qualche volta un aumento del liquido cerebro-spinale.

Istologicamente si osserva nel cervello e nel midollo spinale un infiltramento generale perivascolare di leucociti mononucleari. Un simile infiltramento si osserva in altri organi e specialmente nel cuore, benchè lungi dall'essere così spiccato come nei centri nervosi.

L'esame istologico dei nervi periferici non dà niente di anormale.

Etiologia. — Le più svariate ipotesi sono state emesse per spiegare l'origine della malattia.

Corre, *Zimann*, *Calmette*, la ritengono una intossicazione alimentare paragonabile in qualche modo alla pellagra. Il *Fergusson* la ritiene i forma di anchilostomiasi; il *Forbes* incolpa l'anguillula intestinal *Manson* fino a poco tempo fa considerava causa del morbo la filaria stans. La teoria del *Manson* è quella che ha avuto certamente più v

Molti autori ammettono una origine bacterica e i più variati microrganismi ne sono stati incolpati.

Molto recentemente una Commissione portoghese avrebbe trovato costantemente un diplostrettococco che dapprima descrissero con caratteri culturali speciali chiamandolo « *hypnococco* »; di poi ne modificarono talmente la descrizione che il germe è da considerarsi una semplice varietà di strettococco. Che negli ultimi stadii sia molto frequente una infezione strettococcica risulterebbe anche dalle mie esperienze; è però da considerarsi, secondo tutte le probabilità, una infezione secondaria.

Ricerche personali. — Di queste ho riferito estesamente altrove [1]. Le accennerò qui brevemente. Mentre un giorno (novembre 1902) osservavo del liquido cerebro-spinale d'un malato tipico di malattia del sonno per studiarne la formula leucocitaria, fui sorpreso di scorgervi un flagellato che identificai subito per un tripanosoma. Per avere buoni resultati è consigliabile la seguente tecnica; si eseguisce la puntura lombare coi soliti metodi: si lascia sfuggire la prima porzione del liquido perchè mista a sangue: indi si raccolgono di questo 10 cc. al minimo e si centrifugano per 15 minuti. Dopo questo tempo al fondo della provetta si nota un leggerissimo sedimento biancastro nel quale è facile rinvenire i tripanosomi. Usai questa tecnica in 34 pazienti di malattia del sonno: in 20 il resultato fu positivo. Probabilmente il numero dei resultati positivi sarebbe stato anche maggiore se avessi potuto ripetere la puntura lombare parecchie volte. In un caso trovai i tripanosomi anche nel sangue. Del resto esaminai con questo scopo pochi pazienti.

Spiegai la rarità del reperto nel sangue col fatto che coi comuni metodi si può esaminare di questo solo una pochissima quantità.

Usando la identica tecnica che avevo adoprato per esaminare il liquido cefalo-rachidieno dei malati di malattia del sonno, studiai il liquido cefalo-rachidieno di dodici indigeni affetti da malattie diverse. Il resultato fu sempre negativo.

Del tripanasoma che si trova nella malattia del sonno è stato fatto una specie a sè dal *Kruse* [2]. Esso appartiene certamente al gruppo di tripanosomi formato dal Tr. di *Ewans*, Tr. di *Bruce*, Tr. di *Elmassian*, Tr. di *Nepveu* o *Gambiense*. È ben noto che le differenze morfologiche tra tutti questi tripanosomi sono minime, tanto che alcuni autori ne fanno semplici varietà di una stessa specie.

Caratteri che sarebbero più frequenti nel tripanosoma della malattia del sonno sarebbero, anche secondo i resultati recentissimi del *Bruce*,

---

(1) Journal of Tropical medicine, June 1-1903. — Proceedings of the Royal Society, May 8-1903. — Archiv für Schiffs und Tropen Hygiene, Band VII, 1903.

(2) *Ueber das Trypanosoma Castellanii der Erreger der Schlafkrankheit.* (Sitzungsb. der Niederrhen. Gesellscp. f. Natur und Heilkunde. 18 Mai 1903).

la posizione del micronucleo molto prossima all'estremità posteriore, e la minor lunghezza totale del parassita. Un altro carattere di differenziazione sarebbe il seguente: mentre la massima parte degli altri tripanosomi quali il Tr. di *Elmassian*, il Tr. *Gambiense* ecc. si muovono col flagello in avanti, in quello della malattia del sonno la locomozione avviene sempre colla cosiddetta estremità posteriore in avanti.

In quanto al modo di propagazione — per analogia colle altre forme di tripanosomiasi dissi che se ne doveva ricercare gli agenti in insetti. Emisi anche la ipotesi che certe mosche da me osservate in Uganda e che mi sembravano simili alla *tse-tse fly* potessero forse essere incolpate. (*Archiv. für Schiffs- und Tropen-Hygiene*, Band VII, 1903, pag. 386).

L'idea che la malattia del sonno sia una forma di tripanosomiasi ha trovato parecchi sostenitori ed alcuni oppositori. Tra i primi mi piace nominare il *Sambon*, il quale ha emesso la geniale ipotesi che propagatrice del tripanosoma da me trovato sia quella specie di mosca conosciuta col nome di *glossina palpalis*.

Tra gli oppositori primeggia il *Manson*. Con tutto il rispetto e l'ammirazione, che io ho per il *Manson*, di cui mi onoro di essere scolare, mi sembra un poco strano che egli che sostiene la patogenicità del tr. Gambiense (tr. Nefrieni) tripanosoma che si trova nel sangue dei malati di febbre Gambiense (Trypanosoma-fever), neghi ogni potere patogeno al tripanosoma da me trovato nella malattia del sonno, il quale esiste non solo nel sangue, ma anche nel liqnido cerebro-spinale dei pazienti.

Ed è anche notevole che il *Manson* mentre nega che sia una forma di tripanosomiasi la malattia del sonno, ove un tripanosoma è costante, e quasi sospetta invece sia causata da tripanosomi il *Kalazar*, ove per ora nessun tripanosoma di alcuna specie è stato mai trovato.

Del resto alle obbiezioni più o meno teoretiche dei miei oppositori mi sembra risponda con larga messe di fatti e di osservazioni il recentissimo rapporto di *Bruce* e *Nabarro*, che andarono a continuare le mie ricerche in Uganda.

Essi confermano completamente la presenza di un tripanosoma nei pazienti di malattia del sonno. Quaranta casi furono esaminati, e in tutti e quaranta il liquido cefalo-rachidiano conteneva tripanosomi.

Nessun tripanosoma fu trovato nel liquido cefalo-rachidieno dei controlli, i quali furono in numero di 15.

In sei individui che non presentavano sintomi del male, ma che avevano dei leggieri attacchi febbrili, furon trovati nel sangue dei tripanosomi. Questi tripanosomi però non esistevano nel liquido cefalo-rachidieno, inoltre apparentemente mostravano dei caratteri morfolog differenti (tr. Gambiense?).

Nel loro rapporto *Bruce* e *Nabarro* esprimono anche loro la conv zione che la malattia del sonno è una forma di tripanosomiasi.

Affermano inoltre che c'è una certa probabilità che una specie di tse-tse e precisamente la glossina palpalis trasmetta il tripanosoma della malattia del sonno.

In conclusione a me sembra di non avere errato quando affermai che la malattia del sonno, secondo tutte le probabilità, è una forma di tripanosomiasi.

Discussione.

POLVERINI. Fa notare come la ipotesi del *Castellani*, pur mancando ancora della prova sicura, ha pure molto fondamento di probabilità. Innanzi tutto, essendo la malattia del sonno una malattia che presenta sintomi tali da dover essere considerata come una malattia del sistema nervoso, si spiega bene perchè in essa il tripanosoma sia stato trovato nel liquido cefalo-rachidiano. Inoltre se prendiamo in esame le malattie proprie, sia dell'uomo come degli animali, in cui il tripanosoma è riconosciuto essere l'agente della malattia, vediamo che quantunque i sintomi clinici presi ad uno per uno differiscono nelle diverse malattie, tanto che esse sono ben differenziate l'una dall'altra, pure nell'insieme della malattia considerata a grandi tratti, vi sono dei caratteri che rassomigliano e quelli che il dott. *Castellani* ci ha descritto esser propri della *sleeping-sickness*.

Infatti o si tratti di tripanosomiasi dell'uomo, o del *surra* o del *nagana* dei cavalli si ha, come nella malattia del sonno, il carattere della cronicità, la febbre remittente, lo stato di apatia, e degli edemi diffusi. Nei topini bianchi che si ammalano di tripanosomiasi (e questo si ha frequentemente in India) si riscontra la stessa apatia, indifferenza agli stimoli esterni, leggiero edema, cambiamento di colore e successiva caduta dei peli. Alterazioni nel colorito dei peli e talvolta caduta di essi si osserva anche nei malati di malattia del sonno.

L'A. ebbe occasione in India d'inoculare, insieme al prof. *Galeotti*, un coniglio con del sangue tolto da un cavallo ammalato di *surra;* anche in questo coniglio la malattia ebbe un lungo decorso, si ebbe febbre a tipo remittente, un notevolissimo edema diffuso per tutto il corpo e caratteristico, apatia dell'animale, noncuranza per il cibo, e caduta del pelo.

Tutti questi fatti depongono certo in favore dell'attendibilità dell'ipotesi emessa dal dott. *Castellani*.

FOÀ. Domanda se nei malati affetti da malattia del sonno si ha l'anemia che si riscontra tanto marcata nei cavalli affetti da tripanosomiasi.

CASTELLANI. Dice che non gli è occorso di trovare nei suoi malati molta anemia altro che negli ultimi periodi. Del resto il reperto dell'anemia potrebbe avere un fondamento nei numerosi parassiti intestinali ospiti abituali dei negri.

CELLI. Dice che l'ipotesi emessa dal dott. *Castellani* aveva incontrato il favore generale al Congresso di Bruxelles: *Manson* disse che causa la distribuzione geografia della malattia del sonno non teneva più alla ipotesi della filaria. Disse che sono stati trovati tripanosomi anche in individui sani — forse in periodo di incubazione?

In ogni modo l'osservazione del *Castellani* è di molto valore perchè ha provata la presenza assai importante di un tripanosoma in una sede speciale, in rapporto con la sintomatologia più marcata dei malati di malattia del sonno.

GALEOTTI. Dice aver praticato in India insieme col dott. *Polverini* dei tentativi, riusciti vani, di cultura dei tripanosomi dagli animali.

DIONISI. Fa notare che nei pipistrelli malarici ha frequentemente trovati nel sangue dei tripanosomi senza che questo reperto avesse nessun rapporto con stati di malattia: dice di aver trovati anemici quei pipistrelli che avevano molti parassiti malarici non quelli col *tripanosoma*.

CASTELLANI. Ringrazia il prof. *Celli* e dice che se si sono trovati in 6 individui non affetti da malattia del sonno dei tripanosomi, questi si sono trovati nel sangue e non nel liquido cefalo-rachideo.

Del resto di tripanosomi trovati nell'uomo possono esistere diverse specie come nel cavallo.

Nota poi come essendo lunga assai l'incubazione della malattia del sonno — talchè si sono ammalati dei negri partiti sani dall'Affrica e arrivati sani a Londra — sia possibile che anche i 6 individui con reperto positivo di tripanosomi si trovassero in un periodo di incubazione.

BANTI G. — Le leucemie.

L'A. fondandosi sopra numerose osservazioni personali e sull' analisi critica della casistica esistente nella letteratura, viene alle seguenti conclusioni.

Leucemia linfatica. Negli organi linfatici esiste un tessuto linfoadenoide, atipico tanto per la qualità delle cellule, quanto per i caratteri del reticolo. Esso invade gli organi suddetti, mentre i follicoli con i centri germinativi si atrofizzano e scompaiono : invade poi spesso la capsula delle glandule e talora anche i tessuti periglandulari. Esso invade anche le pareti dei vasi, prima fino all' endotelio, poi si apre nell' interno dei vasi stessi ed i suoi elementi cellulari si mescolano agli elementi normali del sangue. Si hanno inoltre vere metastasi di questo tessuto linfoadenoide in parti ove normalmente non esiste tessuto linfatico.

Per i caratteri atipici di questo tessuto linfoadenoide, che si sostituisce al tessuto linfatico normale; per la sua tendenza a sconfinare dagli organi linfatici invadendo i tessuti prossimi; per l'invasione delle pareti vasali fino a distruggerne l' endotelio e a versare i suo elementi nel sangue; per l' esistenza delle metastasi; le lesioni morfo-

logiche proprie della leucemia linfatica (acuta e cronica) non appartengono al gruppo delle iperplasie, ma delle neoplasie.

Leucemia mielogena. Fatti analoghi si ritrovano anche in questa forma. Il tessuto mieloide esistente nel midollo osseo ed eventualmente in altri organi, è in generale atipico per il reticolo e per le cellule. Si ha pure invasione delle pareti vasali e penetrazione in circolo degli elementi mieloidi. Questi, trasportati in altri organi, possono determinarvi la produzione di focolai mieloidi metastatici.

Anche le alterazioni proprie della leucemia mielogena sembrano quindi appartenere al gruppo delle neoplasie. L'O. però fa qualche riserva in proposito non avendo per anco esauriti gli studi per difetto del materiale anatomico.

L'A. combatte la dottrina classica per la quale le leucemie consisterebbero in una iperplasia degli organi linfo- ed emopoietici con aumentata attività formativa. Egli definisce la leucemia linfatica come una *sarcomatosi linfoadenoide sistematica degli organi linfo- ed emopoietici*, e la mielogena come una *sarcomatosi mieloide sistematica degli organi emo- e linfopoietici.* Le cellule bianche circolanti nel sangue non sono linfociti o mielociti, ma cellule neoplastiche sarcomatose.

Le intime relazioni tra le leucemie e le sarcomatosi sono state messe in evidenza da varii autori (*Strauss*, *Türk*, *Drozda*, ecc.), ma l'A. va più oltre di questi patologi con la sua ipotesi.

L'A. non può dire niente sull'etiologia delle leucemie, tutte le sue ricerche in proposito essendo rimaste senza resultato: ammette però che appartengano al gruppo delle malattie infettive.

Quanto alle pseudoleucemie l'A. rammenta che sotto questo nome si comprendono tipi morbosi molto diversi per natura e per alterazioni anatomiche. Tra i tipi ne distingue due:

1° *Pseudoleucemia linfatica* nel senso del *Pinkus*, nella quale il quadro clinico ed anatomo-patologico è identico alla leucemia linfatica, salvo l'aumento delle cellule bianche nel sangue.

2° *Pseudoleucemia mieloide*, ora per la prima volta descritta dall'A., la quale di fronte alla leucemia mielogena si comporta come la pseudo-leucemia linfatica di fronte alla leucemia linfatica.

L'unica alterazione mortologica, che distingue queste pseudo-leucemie dalle relative leucemie, consiste in ciò che nelle pseudo-leucemie il tessuto linfoadenoide o mieloide neoformato può avere invaso le pareti vasali, ma rimane integro l'endotelio. Appena i focolai neoplastici si aprono nell'interno dei vasi e versano in circolo le loro cellule, dalla pseudo-leucemia si passa alla leucemia.

Discussione.

FOÀ. La natura neoplastica della leucemia è ammessa dai più recenti Autori, per es. dal *Pappenheim* e dal *Pinkus* e può dirsi classica.

Domanda perchè nei casi di linfoma maligno manchi l'alterazione leucemica del sangue. Il *Pappenheim* sostiene che si ha leucemia soltanto quando anche il midollo osseo si ammala e l'A. non è lontano dall'accettare tale opinione.

Nella leucemia mielogena accade talora di trovare il midollo osseo con tessitura fibroide, mentre la milza ed il fegato hanno una tipica tessitura mieloide: come è possibile questo fatto quando si ammetta che l'alterazione leucemica del midollo osseo è una sarcomatosi?

Le lesioni secondarie non sempre si sviluppano intorno ai vasi, come il *Banti* afferma. L'A. ha veduto talora nelle glandole linfatiche apparire i primi megacariociti nei seni indipendentemente dai vasi sanguigni.

Se le lesioni secondarie fossero metastatiche, come è che nel fegato nella leucemia linfatica si localizzano intorno ai rami della vena porta e non intorno a quelli dell'arteria epatica?

BANTI. Nega in modo assoluto che il *Pappenheim*, il *Pinkus* od altri ammettano la natura neoplastica delle leucemie; essi considerano le alterazioni di questa malattia come iperplastiche e infatti dalle leucemie traggono argomenti per indagare la genesi delle diverse specie dei globuli bianchi. Che esistessero rapporti di somiglianza tra leucemia e sarcomatosi è stato detto da vari Autori, ma nessuno ha sostenuto che le leucemie fossero sarcomatosi.

Non crede che dalla pseudo-leucemia si passi alla leucemia per il propagarsi della malattia al midollo osseo; egli ha visto varii casi di leucemia dichiarata nei quali il midollo osseo si trovava nello stadio telangettasico o emopoietico; il passaggio avviene perchè il tessuto leucemico si apre nell'interno dei vasi.

Se in molti casi di pseudo-leucemia o di linfoma maligno non accade mai l'alterazione leucemica del sangue, ciò dipende da che sotto quel nome si comprendono stati morbosi molto differenti: così moltissimi casi di linfomi sono rappresentati da casi di poliadeniti tubercolari ed è naturale che in questi mai si verifichi leucemia. L'aumento leucemico del sangue può eventualmente accadere solo allorchè le alterazioni delle ghiandole linfatiche sono di natura linfoadenoide.

È verissimo che nella leucemia mielogena il midollo osseo può avere una tessitura fibroide, mentre la milza ad es. l'ha mieloide. Questa circostanza non è contraria alla natura sarcomatosa della malattia perchè esistono forme sarcomatose con tendenza alla trasformazione fibrosa ed anche alla cicatrizzazione, per es. la sarcomatosi del *Kundrat*.

È anche vero che talora nelle ghiandole linfatiche la trasformazione mieloide comincia nei seni linfatici indipendentemente dai vasi; ciò avviene quando le metastasi si fanno per via linfatica e provengono ghiandole prossime.

Le metastasi nel fegato all'intorno della vena porta si verific soltanto quando esistono alterazioni leucemiche nella milza o negli

testini: così l'origine ematogena di queste metastasi perivenose riesce completamente spiegata.

CAGNETTO. Egli ha ottenuto la reazione caratteristica con la tintura di guaiaco dal sangue delle leucemie linfatiche ma non è riuscito ad ottenerla col succo delle ghiandole linfatiche, normali o iperplastiche: domanda come questo fatto possa spiegarsi con la teoria sarcomatosa della leucemia.

BANTI. Dichiara che non ha esperienza su questo punto, ma gli sembra che il fatto citato dal Collega appoggi la natura sarcomatosa delle leucemie perchè dimostra una differenza fra i prodotti delle ghiandole linfatiche iperplastiche e quelli delle ghiandole leucemiche.

FOÀ. Prima che termini il Congresso crede esprimere il pensiero di tutti i convenuti ringraziando i colleghi di Firenze per l'accoglienza cordiale ricevuta.

FICHERA G. — Sulla distribuzione del glicogeno in varie specie di glicosuria sperimentale. (1)

Per portare un contributo alle conoscenze sul glicogeno in condizioni patologiche, l'A. fece lo studio della distribuzione di esso in animali normali adulti, in animali iniettati di florizina, in animali sottoposti all'estirpazione totale del pancreas, in animali con asportazione completa del plesso celiaco, ed in animali, infine, in vario modo alimentati.

Gli organi presi in esame furono i seguenti: Cervello, bulbo, midollo spinale; simpatico toracico. Trachea, bronchi, polmoni; tiroide. Stomaco, intestino, fegato, pancreas. Rene, pelvi renale, vescica; testicoli, ovaie. Cuore; ghiandole linfatiche; milza. Muscoli. Cartilagini. Pelle.

L'A. così riassume in una conclusione generale le deduzioni tratte dalle esperienze da lui istituite: Il glicogeno anche in condizioni patologiche appare esclusivamente in elementi che lo preparano per attività metabolica, ad essi propria; questa attività in taluni organismi cellulari, in condizioni normali diminuita sino a scomparire, può ridestarsi allorchè, in condizioni patologiche, altri elementi diventano incapaci a soddisfare tutte le esigenze del ricambio degli idrati di carbonio in vario modo perturbato.

L'aspetto omogeneo, vitreo, splendente che assumono gli elementi ricchi di glicogeno, definito da taluni « degenerazione ialina », è dovuto ad una speciale sostanza che accompagna la produzione del glicogeno stesso e che per il suo significato si può denominare proglicogeno.

(1) Per un errore d'impaginazione la presente comunicazione letta il 6 ottobre viene inclusa nell'ultima adunanza.

COMUNICAZIONI PRESENTATE E NON LETTE

PER MANCANZA DI TEMPO.

D' ARRIGO G. — L' involuzione del tubercolo peritoneale in rapporto alle fasi che subisce il bacillo tubercolare dopo la laparotomia. (Con dimostrazione di preparati microscopici).

Debbo alla cortesia del prof. *Salvia*, che qui sentitamente ringrazio, questo studio sopra un interessante caso di peritonite tubercolare.

Riassumo brevemente il caso ed espongo in succinto le conclusioni più importanti che dalle ricerche fatte, e che pubblicherò in esteso, ho potuto ritrarre.

Si tratta di una Signora di Castellamare di Stabia affetta da peritonite tubercolare con modica ascite, operata la prima volta nel dicembre 1901 e rioperata nel luglio 1902 per ernia manifestatasi sulla linea alba nel tratto di sutura della prima laparotomia. Nella prima operazione si constatò che il peritoneo parietale e viscerale era un po' ispessito e tempestato di nodicini prominenti della grandezza di un acino di miglio ad un piccolo acino di canapa, di color grigio biancastro, c'erano scarse aderenze ed il liquido ascitico, di color giallo, conteneva qualche fiocchetto biancastro fibrinoso. Furono escissi pezzettini di questo peritoneo che ebbi cura di fissare convenientemente. All'esame istologico, su tagli perpendicolari alla superficie della sierosa, ebbi a costatare che l'endotelio in massima parte era desquamato e solo in rarissimi punti presentava delle proliferazioni. Tutta la sierosa era fortemente ispessita e tempestata di tubercoli in varia fase, ricchi di bellissime cellule giganti, alcuni con centro caseificato, altri con zolle di semplice necrosi di coagulazione. Qualche tubercolo si estendeva fin nella sottosierosa, il cui tessuto mostrava una forte dilatazione dei vasi alcuni dei quali erano come avvolti in un mantello periavventiziale costituito da leucociti a nucleo polimorfo. Nei tubercoli più giovani si poteva osservare qualche figura cariocinetica nella zona delle cellule epitelioidi associata a forme di divisione diretta più numerose.

Col metodo del *Weigert* si nota la diminuzione e in alcuni punti la scomparsa del reticolo di fibre elastiche normalmente esistente nel peritoneo.

Ma il reperto interessante e direi quasi sbalorditivo, è stato il batterico. Facendo la ricerca dei bacilli tubercolari coi miei soliti metodi ho potuto constatare un numero straordinario di questi bacilli in quasi tutti i tubercoli, distribuiti in modo vario tra e negli elementi cellulari e numerosissimi e costituenti bellissimi intrecci nel protoplasma delle cellule giganti.

Nel liquido ascitico centrifugato si riscontrava qualche raro bacillo di *Koch*.

L'inferma dopo la prima operazione ebbe per circa un mese disturbi intestinali (ostinata coprostasi), dolori addominali, e presentò di tanto in tanto albumina nelle orine. Poi migliorò man mano e fino all'epoca in cui ho potuto seguirla (marzo 1903) continuava a star bene.

Nei pezzi di peritoneo escissi nella seconda operazione e che macroscopicamente presentavano dei rilievi e degli ispessimenti fibrosi alternati con macchioline pigmentate, ho notato all'esame istologico una diminuzione dell'ispessimento della lamina peritoneale la quale è ricchissima in tessuto fibroso e mostra tubercoli in quattro diversi stadi. Abbiamo tubercoli circondati da una zona di forte iperemia dei capillari ed invasi da una massa alluviale di corpuscoli rossi stravasati che circonda e coarta gli elementi del tubercolo stesso e disgregando la zona linfogranulomatosa, arriva fin sulle cellule epitelioidi più periferiche; nelle parti più centrali del tubercolo si nota una immigrazione ed un aumento numerico dei corpuscoli bianchi. In questa fase gli elementi propri del tubercolo cominciano a mostrare una minore affinità per le sostanze coloranti nucleari e si mostrano disgregati ed alterati nella forma. Vi sono tubercoli che presentano una necrosi in massa degli elementi propri così da trasformarsi in chiazze debolmente ed uniformemente colorate, nelle quali però si può ancora riconoscere la cellula gigante. Intorno ed in mezzo a queste chiazze necrotiche si vedono le ombre dei corpuscoli rossi ed ammassi di pigmento giallo brunastro. Altri tubercoli presentano la quasi completa scomparsa della zona linfo-granulomatosa, la quale è sostituita da un connettivo a grossi fibroblasti che tendono ad invadere e a disgregare lo strato delle cellule epitelioidi arrivando fino alle cellule giganti. Ed altri finalmente, che hanno già perduto i caratteri del tubercolo, sono chiusi ed intramezzati da fitto tessuto fibroso, presentano nel loro centro una quantità di residui nucleari liberi ed è appena possibile in qualche taglio di riconoscere ancora una o due cellule epiteloidi fortemente rigonfiate e con degenerazione fisaloide del nucleo. La ricerca del bacillo tubercolare mi ha dimostrato che nella fase iperemica ed emorragica si riscontrano ancora verso il centro del tubercolo bacilli tipici e forme gemmanti, mentre in quella necrotica i bacilli sono rarissimi e si riscontrano invece abbondanti le forme sferulari, o granulari, sia sparse, sia aggruppate nelle vicinanze delle cellule giganti. Nella forma fibroblastica iniziale è ancora possibile di riscon-

trar bacilli e granuli nella cellula gigante e nelle sue adiacenze, ma in quella fibrosa non si riesce mai a mettere in evidenza nulla che possa riferirsi al bacillo tubercolare.

Conchiudendo, ecco quanto si può rilevare da questa mia osservazione:

1° Esistono forme di peritonite tubercolare nelle quali, contrariamente a quello che si è ammesso finora, il contenuto batterico è enorme senza che perciò si renda difficile od impossibile il processo di guarigione colla cura laparotomica.

2° La laparotomia induce nel tubercolo peritoneale due ordini di fatti involutivi che non sono in nesso fra di loro e che non possiamo facilmente spiegarci. Da una parte l'iperemia intensa, l'emorragia, la coartazione del tubercolo e la necrosi in massa di questo; dall'altra la trasformazione fibroblastica della zona linfoide con esito in fibromatosi completa di tutti gli elementi del tubercolo stesso.

3° Le forme che durante i cambiamenti involutivi del tubercolo subisce il bacillo tubercolare sono assai caratteristiche per la forma necrotica nel senso che in questi focolai di necrosi esso si mostra in copia nella fase granulare o sferulare, la quale secondo gli studi più recenti di *Klein* sarebbe una forma duratura o di resistenza che il bacillo di *Koch* suole assumere tutte le volte che incontra difficoltà nell'ambiente in cui vive. E queste forme durature potrebbero spiegarci la riacutizzazione di molte peritoniti tubercolari dopo mesi ed anni dall'operazione.

4° La trasformazione fibroblastica e la consecutiva fibromatosi del tubercolo costituiscono la guarigione definitiva della tubercolosi peritoneale, non potendosi più riscontrare in questi ammassi fibrosi nè bacilli, nè forme morfologiche ad essi riferibili.

5° La laparotomia anche in peritoniti tubercolari a contenuto batterico abbondantissimo (e sono assai rare), può determinare la guarigione in tempo relativamente breve.

BIGNAMI A. — Sulle alterazioni dei centri nervosi consecutive a lesioni cerebrali infantili.

L'A. avendo avuto occasione di esaminare varii casi di lesioni distruttive a focolaio dell'encefalo occorsi nell'infanzia, ha studiate le alterazioni secondarie dei centri nervosi, che ne sono conseguenza, alterazioni la cui conoscenza ha molta importanza per la patologia generale dell'encefalo. Tali lesioni come è noto, sono molteplici e di svariata natura. L'A. distingue oltre: *a*) le degenerazioni walleriane e le atrofie semplici; *b*) le alterazioni dovute ad arresti o deficenza secondaria di sviluppo; *c*) le alterazioni dovute alla ripetizione a distanza di uno st processo anatomo-patologico; *d*) le sclerosi nevrogliche diffuse o lo *e*) in fine, quelle modificazioni di parti, che probabilmente debbono considerate come espressione di una vera ipertrofia.

In ciascuno di tali gruppi di alterazioni l'A. espone varii dati di fatto e alcune considerazioni.

Quanto al gruppo delle atrofie o degenerazioni cellulipete, che si dirigono cioè in senso inverso alla conduzione nervosa dal punto leso del cilindrasse verso la cellula di origine, le osservazioni dell'A. confermano in generale — in linea di fatto — quelle di v. Monakow.

Così egli conferma le ricerche di questo autore intorno alle degenerazioni di nuclei del talamo in conseguenza delle lesioni corticali infantili.

In varii dei suoi casi l'A. ha avuto occasione di rilevare alterazioni, che vengono comunemente considerate come esempi di atrofie di 2° ordine o atrofie terziarie o atrofie propagate, come altri dice. Egli però ritiene che le alterazioni in questione debbano invece considerarsi come semplici fenomeni di arresto o di deficienza di sviluppo; e conclude affermando che in nessuno dei suoi casi ha potuto osservare con certezza una degenerazione o un'atrofia propagata anterograda o retrograda, e che tutte le volte nelle quali si aveva l'apparenza di una lesione simile, con grande verosimiglianza si trattava di un arresto o di un difetto di sviluppo.

Quanto alle alterazioni dovute alla ripetizione a distanza di uno stesso processo anatomo-patologico, l'A. nota che si dànno nell'encefalo-atrofie e sclerosi a distanza, che si ripetono in parti in intima connessione anatomica tra loro, senza che la lesione di una parte possa considerarsi come secondaria a quella dell'altra; tanto che, come si parla di sclerosi combinate midollari, si può parlare, a suo avviso, di sclerosi combinate encefaliche.

Quanto alle sclerosi diffuse o propriamente lobari, che non di rado accompagnano le lesioni infantili dell'encefalo, l'A. rileva che si possono presentare in varia forma anatomo-patologica. E si trattiene specialmente a descriverne una forma, nella quale, mentre l'aumento di consistenza di un lobo o di una parte di un lobo cerebrale è notevolissima, non si trova all'esame istologico un notevole aumento di nevroglia.

Descrive infine alcune modificazioni anatomiche riscontrate in cervelli con lesioni infantili, le quali verosimilmente debbono considerarsi come espressione di un'ipertrofia funzionale compensativa. Così ad es. in un caso di sclerosi lobare del cervelletto ha osservato un forte sviluppo del braccio del ponte, del corpo restiforme, delle fibre cerebello-olivari e, in genere, delle fibre arciformi provenienti dalla metà normale del cervelletto. Nello stesso modo in un carbonaio robustissimo, nel quale si trovò all'autopsia una gravissima atrofia dell'emisfero cerebrale sinistro datante dall'infanzia (la quale non aveva dato rilevabili sintomi clinici), con agenesia di una piramide, la piramide del lato sano si trovava eccezionalmente sviluppata.

LUSTIG A. — I metodi razionali di immunizzazione per mezzo di sostanze chimicamente estratte dai microrganismi patogeni.

(La memoria originale è pubblicata nel giornale *Il Morgagni*, a. 1903).

LUSTIG A. — Ricerche sperimentali sulla trasmissione dell' immunità acquisita per i veleni (abrina).

(La memoria originale è pubblicata negli *Atti dell'Accademia dei Lincei*, a. 1903).

POLVERINI G. — Ricerche sul piede di Madura (Micetoma). (Con dimostrazione di preparati).

Presenta culture di *Streptothrix Madurae*, e preparati microscopici dimostranti lo stesso microrganismo nel tessuto del piede e le alterazioni che esso vi determina.

Le culture ed i preparati furono ottenuti da un piede che aveva subìto la disarticolazione perchè affetto da micetoma, e che apparteneva ad una donna Indiana ricoverata in un ospedale di Bombay. La malattia datava da più di due anni e le alterazioni, che avevano avuto per punto d' origine la regione dorsale del piede si erano abbastanza estese, specialmente verso la parte più centrale, senza però avere ancora causato deformazioni apparenti nel piede stesso. Furon fatte culture, ed alcune di esse mandate in Europa al Laboratorio del prof. *Lustig;* e dai resultati concordi dell' esame batteriologico fu dimostrato che il microrganismo isolato in cultura pura aveva caratteri identici alla *Streptothrix Madurae* descritta da *Vincent*, e che si ritiene generalmente essere l' agente specifico del micetoma. L' A. descrive come il microrganismo invade i tessuti, il suo modo di svilupparsi in conglomerati ed i fenomeni regressivi a cui il microrganismo, che rassomiglia al fungo raggiato, va incontro. Le alterazioni principali che si hanno nei tessuti invasi dalla *Streptothrix Madurae* sono, oltre all'abbondantissima infiltrazione leucocitaria, una grande abbondanza di vasi di neoformazione, e, caratteristico per il micetoma, un gran numero di ammassi di plasmacellule. Queste plasmacellule sono per la maggior parte alterate, perchè aumentate di volume, come idropiche, pur avendo ben conservato quasi intatto il loro nucleo: in tutto il tessuto poi vi è tendenza all' idropisia, all' imbibizione.

Riguardo alla questione dell' identità o meno fra Micetoma ed Actinomicosi, l' A. mette in rilievo i caratteri clinici, batteriologici, o-logici e di distribuzione geografica per cui sarebbe assurdo pa re d' identità delle due malattie, fra cui esistono solo dei caratteri d o-miglianza.

TIBERTI N. — Ricerche istologiche sui fenomeni secretivi nelle capsule surrenali di alcuni anfibi. (Con dimostrazione di preparati).

L'A. ha studiato l'azione sulle capsule surrenali delle rane e dei rospi di alcune sostanze le quali, come la policarpina e la nicotina, sono capaci di stimolare la secrezione negli organi ghiandolari veri e propri; e di altre sostanze, le quali sono da considerarsi come prodotti tossici del ricambio materiale (leucina, xantina, creatina). Si servì anche dell'acido taurocolico.

Egli notò nelle cellule della sostanza corticale delle capsule surrenali di questi anfibi fatti evidenti di ipersecrezione, caratterizzati da un aumento considerevole di granuli fucsinofili e di granulazioni osmiche che normalmente si riscontrano nel citoplasma di queste cellule. Il massimo della ipersecrezione fu osservato in seguito ad iniezioni di acido taurocolico.

Le così dette *Sommerzellen* delle rane e le cellule della sostanza midollare non apparvero notevolmente modificate.

Nei seni venosi, di cui le capsule surrenali di questi anfibi sono ricche, l'A. notò in alcuni casi un aumento dei granuli che normalmente vi si trovano.

Ora dato, secondo alcuni Autori, che il secreto granulare delle cellule midollari passi nei seni venosi, ove si presenta cogli stessi caratteri che nell'interno delle cellule, il riscontrare un aumento delle granulazioni nei seni potrebbe far pensare ad un aumento dell'attività secretoria delle cellule midollari.

FEDERICI F. — Su alcuni particolari caratteri del grasso contenuto nelle cellule delle capsule surrenali.

Nelle capsule soprarenali degli anfibii altri già mise in evidenza che la secrezione avvenga, se non in totalità, almeno in grandissima parte, sotto forma di granuli alla stregua di quanto avviene in altri organi ghiandolari.

Nei mammiferi, per quanto scrupolosamente si eseguisca nei suoi minuti particolari il metodo del *Galeotti*, non è possibile dimostrare la presenza dei granuli altro che qualche rara volta ed anche allora in modo così scarso ed incompleto da riuscir la prova tutt'altro che esauriente.

Volgendo la mente alle possibili cause capaci di determinare il fatto, l'attenzione è tosto richiamata dalla quantità veramente cospicua di grasso che si raccoglie nelle capsule surrenali, e si rimane maravigliati che nei preparati microscopici di pezzi trattati col liquido di *Flemming* o dell'*Hermann*, questa apparisca in molto minor copia di quanto si sarebbe macroscopicamente giudicato.

Pensai allora che il grasso nelle manipolazioni necessarie ad una buona fissazione e colorazione abbandonando le cellule, fosse capace di trascinar seco i granuli di secrezione cosicchè divenisse poi impossibile il metterli in evidenza.

Per ridurre al minimo ogni passaggio attraverso liquidi solventi della sostanza grassa operavo così: le capsule surrenali tolte dall'animale immediatamente dopo ucciso venivano aperte per metà e con un bisturi raschiava una piccola particella di sostanza corticale e midollare, che venivano accuratamente distese sopra un vetrino coprioggetti: fissaggio ai vapori d'acido osmico e dopo lavatura in acqua distillata ed essicazione all'aria venivano esaminate al microscopio montando i preparati in glicerina.

Allora il grasso compare in quantità veramente straordinaria più nelle cellule della sostanza corticale ma abbondante pure in quelle della sostanza midollare.

Esso si trova sotto forma di granuli finissimi diffuso in tutto il protoplasma cellulare ed in mezzo alcune gocce di grossezza assai maggiore derivanti dalla fusione di molte minori, più specialmente rivolte verso la periferia del corpo cellulare.

Nel nucleo più spesso nulla, ma in non pochi casi una o due gocciole piuttosto voluminose ed a posizione eccentrica.

Questo grasso mentre presenta le reazioni delle sostanze grasse in genere, se ne discosta per la grande facilità con la quale anche dopo la fissazione abbandona la cellula non appena sia messo in contatto con sostanze capaci di scioglierlo.

Era già stato osservato ed interpretato come dovuta a vacuoli di secrezione l'apparenza spugnosa con la quale si presentano i preparati ottenuti da pezzi sottoposti ai soliti mezzi di fissazione e di colorazione: orbene tali vacuoli, a mio modo di vedere, null'altro rappresentano che le cellette entro le quali si trovava il grasso disciolto e trasportato via dal preparato.

Infatti se i vetrini fissati ad esempio nel *Flemming* si sottopongono ad un processo qualunque di colorazione con relativo passaggio attraverso gli alcool e lo xilolo eppoi vengono montati, si trovano le cellule trasformate in veri crivelli da una quantità straordinaria di fori nettamente rotondi e corrispondenti alle gocce scomparse del grasso.

Questa apparenza speciale assunta da una cellula fissata e distesa sopra un vetrino ed aderente ad esso in modo tale da impedirne ogni deformazione si modifica, ed è facile il comprenderlo, quando il fatto avvenga in un pezzetto intero di tessuto dal quale se ne sottrae rapidamente una parte e si sottopone dipoi ad agenti, quali l'alcool ed il lore, capaci di raggrinzarlo o di coartarlo: in questo modo si gener. apparenza spugnosa che talvolta è così speciale da sembrar carat stica delle cellule capsulari.

Da quanto ho detto si comprende assai bene come il metodo *Galeotti* per lo studio della secrezione granulare nelle capsule surrenali di mammiferi presenti delle gravi difficoltà, dovute alla presenza del grasso che può mascherare completamente i granuli se lasciato in sito; li può trascinar seco se disciolto.

Ma qual è l'ufficio di questo grasso che si trova raccolto in così grande quantità nel protoplasma cellulare non solo ma anche talvolta nel nucleo? È esso un grasso dovuto a processi d'infiltrazione adiposa o si genera nel seno stesso del protoplasma cellulare?

E innanzi tutto le apparenze microscopiche non depongono in favore dell' ipotesi che il grasso derivi da altre parti dell'economia e che nelle cellule delle capsule surrenali venga dipoi depositato.

Se alla periferia della cellula si riscontrano delle gocciole adipose cospicue, il fondo è però ripieno di granuli minutissimi ed è sicuramente dalla confluenza di questi che si originano le goccie maggiori.

Un argomento che dà ancora maggiore interesse al grasso raccolto nelle cellule delle capsule surrenali è lo speciale modo di comportarsi di esso nell'inanizione.

A tale scopo istituii una serie di ricerche che mi hanno dato risultati quasi concordi.

Due cavie del medesimo peso o della medesima età venivano differentemente alimentate: una era in modo abbondante nutrita, all'altra si diminuiva gradatamente il vitto fino al punto da lasciarla morire di inanizione.

Sacrificato anche l'animale controllo e fatti d'entrambi preparati delle capsule surrenali, non furono riscontrate che minime differenze nella quantità del grasso contenuto nell'interno delle cellule quantunque nell'animale ucciso per inanizione fosse l'adipe quasi totalmente scomparso da ogni altra parte dell'organismo.

Uguali resultati ottenni prendendo animali nel periodo del letargo ed in un periodo di veglia: nei pipistrelli e nei ghiri in questi così differenti periodi di vita le capsule surrenali si mostrarono in modo uguale ricche di goccioline adipose.

Questi fatti e la costante presenza di grandi quantità di grasso nelle capsule surrenali d'ogni specie d'animali fa pensare che più alto debba essere l'ufficio di questa sostanza; non è improbabile il ritenere che esso si leghi intimamente alla funzione secretiva di questi organi tanto da esserne una delle manifestazioni.

FEDERICI F. — Le capsule surrenali nell'infezioni sperimentali acute e croniche.

Mi propongo di riferire qua i dati raccolti in un corso non breve di esperienze che miravano a studiare il diverso modo di comportarsi delle capsule surrenali nelle malattie infettive acute e croniche, e quale

diversa fisionomia clinica queste malattie infettive assumessero a seconda che si trattasse di animali a capsule surrenali integre o lese.

In un primo gruppo di esse adoperai batteri ad alto potere patogeno capaci di determinare nell'animale da esperimento, cavie e conigli, una malattia rapidamente mortale: gli animali venivano sacrificati nei diversi periodi del morbo oppure lasciati in vita finchè di per se stessi non soccombessero all'infezione.

L'inoculazione dei germi patogeni veniva fatta al disotto della pelle della coscia, qualche volta nella cavità peritoneale: le capsule surrenali tolte nel più breve tempo possibile dopo la morte fissate nei diversi liquidi a ciò destinati ed esaminate istologicamente.

Indipendentemente dal genere diverso dell'infezione ma in istretto rapporto con la gravità di essa e col periodo differente del male, questi organi si presentano sempre in modo notevole alterati.

Se si prescinde dai casi nei quali vennero esaminati nei primissimi stadii del male esse già nelle apparenze macroscopiche danno segno di risentimento patologico. E si fanno più tumide, il loro colorito giallo caratteristico si fa rossastro, indice della forte iperemia alla quale sono soggette: spesso alla loro superfice si osservano delle piccole emorragie puntiformi. Tali fatti nelle cavie sono più spiccati nella capsula di sinistra la quale anche allo stato normale si presenta assai più voluminosa della destra, nel coniglio tale differenza è quasi nulla.

All'esame istologico il primo fatto iniziale e costante è rappresentato da una notevole iperemia che, a seconda dell'acutezza del morbo, può farsi imponente al punto da determinare vastissime emorragie tanto nella sostanza corticale che nella midollare, ed è in quest'ultima specialmente che per essere il tessuto più lasso si formano più vaste raccolte: in una cavia morta in modo acutissimo per carbonchio nella capsula surrenale di destra la sostanza midollare era completamente sostituita da sangue, cosicchè pareva di trovarsi in presenza di una cisti ematica.

Nelle cellule le alterazioni minori si riscontrano nello strato glomerulare della corticale: negli altri strati di essa e nella sostanza midollare può darsi siano in modo quasi uguale appariscenti; esse non presentano nulla di specifico: dal rigonfiamento torbido iniziale si giunge nei casi ove fu più grave il male a vaste zone di necrosi jalina.

Tale il quadro generale delle alterazioni macroscopiche e microscopiche delle capsule surrenali nelle malattie infettive acute: nelle croniche allo stato congestizio iniziale tien dietro una ipertrofia con neoformazione connettivale permanente, con maggior interessam della sostanza corticale che non della midollare: l'alterazioni int delle cellule sono anche qui in massima parte rappresentate da zon necrosi jalina.

Fra le malattie croniche ho dato maggior campo d'esperienza

tubercolosi volendo studiare se vi fosse in essa una speciale disposizione a localizzarsi nelle capsule surrenali.

Orbene allorquando le inoculazioni venivano fatte nella cavità peritoneale ed il processo morboso rapidamente invadeva tutti i visceri in essa contenuti, anche le capsule surrenali si presentavano colpite con la caratteristica formazione di noduli e loro consecutiva caseificazione: ma se per contro l'iniezione del materiale settico veniva fatta in altra parte lontana del corpo, come ad esempio al disotto della pelle delle coscie in maniera da non potersi avere trasmissione del processo alle capsule per diretta contiguità, queste non presentavano che le alterazioni generali di cui si è fatto parola per le altre infezioni. Sembra non vi sia o per lo meno non è risultato dalle mie esperienze nella cavia una speciale predisposizione di questi organi ad ammalare durante l'infezione tubercolare.

Nelle capsule surrenali tolte agli animali infettati ho quasi sempre fatto delle ricerche batteriologiche giacchè non era improbabile dato il loro precoce risentimento che potessero farsi nido di germi patogeni: orbene non sono mai riuscito a scoprire in esse microrganismi se non quando l'esame batterico del sangue del cuore ne aveva già in esso svelata la presenza.

Quanto ho detto va in special modo ripetuto per la tubercolosi avendo per essa fatte più numerose esperienze: pezzetti di sostanza capsulare tolti da cavie morte per infezione tubercolare ma senza partecipazione diretta al processo delle capsule surrenali, si sono sempre mostrate sterili per il bacillo di *Koch* non riuscendosi ad ottenerne lo sviluppo nei mezzi culturali più adatti, nè potendosi riprodurre la malattia con l'inoculazione di frammenti di esse nella cavità peritoneale di altre cavie: anche le ricerche istologiche rimasero sempre negative.

Ho dipoi studiato se speciali impronte al processo morboso potessero esser date da lesioni precedenti delle c. surrenali e se speciale recettività ad ammalare si mostrasse in animali emiscapsulati di fronte ad animali normali.

La tecnica operatoria praticata è stata l'aggressione dell'organo dalla parte dorsale: nella cavia un taglio che partendo dall'ultima arcata costale decorra parallelo per un tratto di circa due centimetri alla massa dei muscoli lombari cade sulla loggia renale e di lì è relativamente facile aggredire la capsula senza emorragia e senza traumatismo di organi importanti.

Ho sempre preferito togliere la capsula surrenale di sinistra per duplice scopo: primo perchè la destra per i suoi stretti rapporti col fegato offre maggiori difficoltà operatorie; secondo perchè essendo la sinistra più voluminosa è logico supporre che maggiore sia la sua importanza funzionale.

Nel coniglio la tecnica è resa più difficile dalle posizioni delle c. surre-

nali che si trovano situate più in alto e più all'interno del rene; eseguito il taglio delle parti molli e scoperto il rene occorre rialzar fortemente la colonna vertebrale per mettere bene in evidenza la capsula surrenale.

La maggior parte degli animali sopravvive all'operazione e si rimette, in modo abbastanza rapido, in buone condizioni di salute.

L'iniezione di germi ad alto potere patogeno in animali di recente emiscapsulati determina, nella maggioranza dei casi più rapidamente la morte che negli animali testimoni. Se però l'esperienza si conduce cinque o sei settimane dopo avvenuta la scapsulazione, quando cioè è già avvenuta l'ipertrofia conpensatoria nell'altra capsula residua, fatto questo che avviene in modo rapido e costante in tutti gli animali che si rimettono bene dall'operazione, allora non appaiono più notevoli differenze negli animali da esperimento e nei controlli.

A combattere l'ipotesi che sia il traumatismo operatorio che nei primi giorni rende l'animale meno adatto a subire una operazione, ho istituito una serie d'esperienze che mi sembrano dimostrative.

In un certo numero di animali all'estirpazione di una c. surrenale ho sostituito l'iniezione nel suo interno di una sostanza capace di provocare rapide e profonde distruzioni. Mi sono a tale scopo servito di una soluzione concentrata di NO^3Ag di cui iniettavo piccole quantità mediante una siringa del *Pravatz* ad ago sottile nella capsula surrenale messa allo scoperto: negli animali di confrontro inoculavo una soluzione fisiologica di ClNa.

Orbene negli animali infettati poco tempo dopo l'operazione, in quasi un terzo di casi la sintomatologia è stata più grave e la morte ha preceduto negli animali a capsula surrenale lesa. Mai mi è riuscito di verificare quanto *Langlois* e *Charrin* trovarono sperimentalmente con varie tossine e cioè che l'ablazione della capsula ritardi la morte in $^2/_3$ dei casi.

Concludendo: le capsule surrenali nel decorso delle malattie infettive sperimentali vengono precocemente ed in modo quasi costante colpite: tali lesioni sono di per sè stesse capaci di aggravar singolarmente il quadro morboso in molti casi accelerando l'esito letale.

PICCHI L. — Encondroma delle vene. (Con dimostrazione di preparati).

(Comunicazione fatta all'Accademia Medico-Fisica Fiorentina il 18 giugno 1903).

PICCHI L. e GIARRÈ C. — Ricerche sui bacilli emofi

(Il lavoro è pubblicato per esteso nel fascicolo 5, anno LVII, de *Sperimentale*, anno 1903).

AZZURRINI F. e MASSART G. — Azione delle tossine tifiche sulla morfologia del sangue.

Tutti coloro che hanno studiato il sangue nell'uomo tifoso hanno finito per riconoscergli una speciale formula ematologica.

Il *Naegeli* ha osservato all'inizio dell'infezione una lieve ed incostante leucocitosi, alla quale rapidamente sussegue una leucopenia che tutti hanno riscontrato nel periodo di stato. A questa leucopenia si sostituisce, al momento della defervescenza, una leucocitosi più o meno variamente marcata.

Prendono parte alla leucopenia tutte le cellule bianche del sangue, ma i linfociti bene spesso discendono relativamente più dei polinucleati. Iniziatasi la leucocitosi i linfociti aumentano più degli altri ed in qualche caso giungono a dare l'inversione della formula normale.

Questi fenomeni o meglio questa formula ematologica per ciò che riguarda la leucopenia, i varii Autori l'attribuiscono all'azione paralizzante delle tossine tifiche sul midollo osseo e sugli organi linfatici e considerano la leucocitosi come uno dei principali fattori di difesa dell'organismo.

La scomparsa quasi costante delle cellule eosinofile nel sangue dell'uomo tifoso è, secondo i numerosi osservatori, in rapporto collo stato d'intossicazione dell'organismo, tantopiù che queste cellule, mentre diminuiscono fino dall'inizio, non ricompaiono che a febbre caduta o in numero molto scarso nella defervescenza.

Allo scopo di conoscere quanto di vero e di certo fosse in queste ipotesi, gli AA. hanno tentato di agire coll'iniezione di tossina tifica sulla massa sanguigna di alcuni cani col duplice obiettivo di studiarne le variazioni nella loro formula ematologica e di interpretarle collo studio istologico degli organi.

Gli AA. hanno reso virulentissimo il bacillo di *Hebert* attraverso il peritoneo di alcune cavie e disseminatolo in palloni di brodo, che sono restati due giorni a 37° e due giorni a temperatura ambiente, ne hanno ottenuto per mezzo della candela di *Chamberland* un filtrato sterile.

Hanno quindi proceduto alle iniezioni sotto cute di questa tossina tifica nella misura di 10 a 15 cc^3 per Kg. di animale in 10 cani, dei quali 4 erano stati splenectomizzati circa un anno prima e 6 erano normali.

Gli AA. hanno ottenuto un reperto eguale e costante tanto negli animali splenectomizzati come in quelli normali. Subito dopo l'iniezione si inizia una diminuzione dei globuli bianchi che scendono ad un minimo di poca durata fra la 2ª e la 3ª ora negli animali iniettati con 10 cc^3 a chilogrammo, ed in quelli iniettati con 15 cc^3 la cifra più bassa oscilla e perdura assai fra la 3ª e la 7ª ora. A questa leucopenia prendono parte più o meno accentuatamente tutte le cellule bianche del sangue. I linfociti cadono a cifre bassissime ed in un caso sono perfino scomparsi alla

6ª ora e ricomparsi in piccolo numero un'ora dopo. Toccato il *minimum* risalgono e prendono parte alla parabola ascendente tutte le forme, all'infuori delle eosinofile, che scomparse di solito fra la 2ª e la 9ª ora, a seconda dei soggetti, non ricompaiono che alla 24ª e qualche volta in 2ª, in 3ª ed anche in 4ª giornata. Dopo raggiunto il massimo della leucocitosi (24ª ora) tutti i globuli bianchi ridiscendono in generale con oscillazioni variamente sentite verso la norma, alla quale si avvicinano fra il 7° ed il 13° giorno dall'iniezione.

Per spiegarsi il meccanismo della sentita diminuzione dei globuli bianchi in seguito all'iniezioni di tossina tifica, gli AA. sacrificarono 6 cani nel momento della massima leucopenia; 4 di essi erano gli splenectomizzati e 2 normali. Il reperto necroscopico di questi animali uccisi col cloroformio fu il seguente: congestione di tutti i visceri; nessuna modificazione dei gangli linfatici delle varie regioni. L'esame istologico mentre dette quale alterazione costante un leggiero rigonfiamento torbido degli elementi cellulari dei varii visceri, senza accumulo abnorme di globuli bianchi in alcuno di essi, richiamò l'attenzione degli AA. su certi fatti di leucolisi e di alterazione dei centri germinativi delle ghiandole linfatiche, ma non avendo su questa parte del lavoro completate le loro ricerche essi si riserbano un giudizio definitivo.

AZZURRINI F. e MASSART G. — La morfologia del sangue negli animali smilzati.

Circa le modificazioni che la splenectomia apporta sulla massa sanguigna nell'organismo sano, furono già eseguite numerose ricerche sperimentali; ma coloro che si occuparono di tale argomento, giunsero a risultati non del tutto concordi fra loro.

Gli Autori dunque, ne hanno ripreso lo studio facendo numerosi esami di sangue in 4 cani previamente splenectomizzati, due dei quali furono tenuti in vita 18 mesi; gli altri due 15, dopo l'ablazione della milza.

In tutti e quattro gli animali, essi hanno costantemente osservato che, tanto il tasso dell'emoglobina, quanto il numero dei globuli rossi per millimetro cubo di sangue, solo nel primo giorno dopo la operazione si trovano notevolmente aumentati.

Al secondo giorno ritornano alle cifre normali, circa alle quali si mantengono sempre, con qualche lieve oscillazione.

Riguardo al numero totale dei globuli bianchi per millimetro cubo di sangue; già 24 ore dopo la splenectomia, è in atto una marcata leucocitosi, la quale persiste alcuni giorni, al massimo nove.

Dopo, il numero dei leucociti tende a diminuire, mantenendosi sempre al disopra della norma.

I leucociti a nucleo polimorfo aumentano notevolmente fino al giorno, dopodichè lentamente diminuiscono, per mantenersi dur

l'anno, oscillando ora in più ora in meno, sempre al disopra delle cifre normali, e riavvicinandosi a queste al 15° e 18° mese.

I linfociti, nel primo giorno diminuiscono da $^1/_2$ ad $^1/_9$. Al secondo giorno tendono a rialzarsi; raggiungono un massimo in epoche variabili; aumentano, diminuiscono, mantenendosi in due cani di poco al disopra della cifra primitiva, negli altri due invece, di poco al disotto di questa.

I mononucleati grandi diminuiscono entro le prime 24 ore, poi aumentano essi pure nei primi giorni dall'operazione, per ridiscendere a cifre ordinariamente superiori a quella primitiva, con forti oscillazioni.

A quindici e diciotto mesi si trovano in tutti e quattro gli animali, molto al disotto del normale.

Le forme di passaggio dopo un giorno, in due cani sono di poco diminuite, negli altri due di poco aumentate.

Al secondo giorno aumentano in tutti, salgono fino al 7°-9° giorno, diminuiscono di nuovo, ma di poco; rimanendo poi costantemente al disopra della norma, essi pure con notevoli oscillazioni.

I polinucleati eosinofili, nelle prime 24 ore sono scomparsi del tutto, o almeno ridotti a cifre bassissime.

Al terzo giorno si ritrovano in scarso numero, e quindi vanno aumentando gradatamente, finchè ad un anno si osserva una vera eosinofilia superando essi la norma di un terzo fino al doppio e più.

A 15 e 18 mesi, il loro numero è quasi ritornato al normale. Avendo i quattro cani, in questo periodo di tempo, goduto sempre della più perfetta salute ed essendo anche molto aumentati di peso, gli autori concludono che la milza è un organo la cui funzione può venire facilmente compensata e che, per quanto in conseguenza della splenectomia, la formula ematologica subisca delle notevoli modificazioni, queste non agiscono affatto sulle condizioni di salute degli animali, e durano quel tanto di tempo necessario ad altri organi, di supplirla nelle sue funzioni.

In base poi ai loro reperti, negano che essa contribuisca alla emopoiesi, mentre le riconoscono e la funzione emolitica e quella linfopoietica.

Terminano, emettendo la ipotesi se eventualmente la milza abbia, insieme al midollo osseo, anche una funzione leucolitica; spinti a ciò dal fatto, che dopo la splenectomia il numero totale dei leucociti si mantiene sempre a cifre più alte di quelle normali.

FOÀ PIO. — Sull' infiltrazione grassa. (Osservazioni ed esperimenti).

La questione della derivazione del grasso e del deposito del medesimo nei vari organi o nei vari elementi di un dato organo è molto

dibattuta ai nostri giorni, in cui si tende ad ammettere che in qualunque caso il grasso provenga dai depositi suoi naturali, e non mai da diretta trasformazione degli albuminoidi del protoplasma.

L'A. ha iniziato alcune osservazioni sulle masse trombotiche quali si trovano nei cadaveri per diverse cause, e vide che esse contengono con grande frequenza degli elementi endoteliali e dei leucociti gremiti di goccie di grasso di diversa grossezza. Osservò pure dei casi di trombosi arteriose da cancri ulcerati, in cui il grasso dal trombo era penetrato tra gli elementi delle tonache interna e media dell'arteria corrispondente. Vide casi di atrofie della prostata in soggetti tubercolosi, ma senza la partecipazione dell'apparato genitale al processo, e nei quali tutto l'epitelio prostratico non era rappresentato che da grandi accumuli di goccie di grasso di varia grossezza; vide inoltre un caso di rene diabetico in cui la parte periferica soltanto delle cellule epiteliari dei canalicoli contorti era infiltrata di gocciole di grasso di diversa grossezza. A chiarire un poco l'origine di tali processi, l'A. ha intrapreso delle esperienze, le quali consistettero dapprima nell'innesto di frammenti di organi freschissimi sottocute o nell'addome di alcuni animali, e trovò che in tali condizioni avviene sempre un'intensa infiltrazione grassa degli elementi interstiziali connettivi ed endoteliali, mentre è risparmiato dal grasso l'elemento parenchimatoso, il quale cade presto in necrobiosi. Se i pezzi d'organi freschi erano chiusi in un sacchetto di celloidina e così innestati, allora si aveva ugualmente la necrobiosi degli elementi, ma mancava affatto l'infiltrazione grassa. Dopo ciò l'A. produsse degli infarti nel rene con legatura di un ramo dell'arteria renale e vide che il grasso non era nella parte morta ma solo nelle parti limitrofe; allora innestò dei pezzi d'infarto e di parenchima circostante sano, e vide che il primo non si modificava punto, e il secondo invece, subiva la solita infiltrazione grassa circostante.

Praticò in seguito delle infiammazioni interstiziali circoscritte del rene, innestò i pezzi infiammati, e trovò che essi si lasciano totalmente e intensamente penetrare dal grasso. Infine legò temporaneamente per un'ora e mezzo i vasi del rene; indi lasciò sopravivere 20 ore l'animale. Estratti i due reni e innestati alcuni frammenti trovò che nel rene che aveva subito la legatura, si era prodotta la solita infiltrazione corticale, e che nell'altro rene erano accumulati leucociti e grasso.

Il primo fatto non sorprende perchè la parte corticale del rene è nutrita dai vasi capsulari anche dopo la legatura dell'arteria emulgente, onde la nutrizione in essa si conserva. Più difficile è l'interpretazione del secondo fatto, il quale probabilmente dipende dall'essersi accumulate nel rene unico funzionante alcune sostanze le quali attraggono i leucoci lasciano penetrare il grasso. Queste ultime esperienze saranno tutta ripetute. Interpretare il fenomeno dell'infiltrazione grassa ottenuta pezzi innestati non è cosa facile. Certo è che esso non si produce qua

gli elementi sieno mortificati, ma solo colà dove gli elementi hanno diminuito la loro capacità vitale. Se il fenomeno si debba interpretare come una adipotassi, o come una modificazione fisica del protoplasma così che esso si lasci più facilmente penetrare dal grasso, non si può dire in modo assoluto; certo è che esso è un fenomeno vitale legato a particolari condizioni di esistenza di taluni elementi. Il grasso dei trombi vi è certo alcune volte trasportato con elementi provenienti da quelle parti e da quei focolai morbosi che hanno cagionato il trombo, ma talvolta è possibile che gli endoteli e i globuli bianchi racchiusi nel trombo abbiano subito prima di cadere in necrosi una infiltrazione grassa, analoga a quella che endoteli e connettivi subiscono nei pezzi che furono innestati.

I sopradetti esperimenti danno appoggio all'idea che la polisarcia, la quale è una universale infiltrazione grassa dell'organismo, sia dovuta ad una diminuita capacità vitale degli elementi cellulari.

MARCHETTI G. — Contributo alla conoscenza della patologia delle capsule soprarenali.

La importanza sempre maggiore che vanno acquistando per recenti studi le capsule surrenali, mi ha determinato a pubblicare queste osservazioni, frutto di ricerche compiute durante gli ultimi due anni nell'Istituto di anatomia-patologica diretto dal prof. *P. Foà*.

Le autopsie eseguite in questo tempo furono più di 1200: in quasi tutte vennero esaminate le capsule soprarenali e conservate quelle che presentavano maggiore interesse. Risultati interessanti hanno avuto le mie ricerche in tutti i capitoli dell'anatomia patologica di questi organi: essi si possono riassumere brevemente così:

Fra *i vizi di prima formazione:* distinzione fra capsule accessorie e nodi strozzati para-capsulari; le prime risalgono ad un errore di sviluppo embrionale e ciò è dimostrato dall'essere esse distribuite lungo l'apparato urogenitale e lontane dall'organo principale: gli altri consistono in porzioni di sostanza corticale che si estroflettono e si staccano durante la vita extra-uterina — sono sempre situati nel connettivo lasso pericapsulare. Tanto gli uni che l'altre nei processi patologici si comportano allo stesso modo e cioè o restano immuni da qualsiasi lesione, o sono meno colpiti dell'organo principale.

Per me essi rappresentano organi di riserva e tali si sono dimostrati in quelle esperienze nelle quali dopo l'estirpazione dell'organo principale, si sono trovate ipertrofiche tanto da far credere alla rigenerazione dell'organo (*Tizzoni*). Nella patologia umana il *Roth* ha trovato molte capsule accessorie ipertrofiche in un caso di morbo *D'Addison* con distruzione quasi completa delle capsule principali.

Importanza speciale hanno in patologia i nodi strozzati para-capsu-

lari perchè da essi si originano tumori e in special modo le iperplasie nodose.

Pure tra i vizi di prima formazione ho riscontrato due inclusioni embrionali di parenchima capsulare nell'ovaio. Si tratta di nodi rotondeggianti, nettamente limitati, costituiti di sola sostanza corticale. In ambedue i casi d'inclusione embrionale è accompagnata da una formazione cistica a contenuto granuloso, tappezzata di epitelio schiacciato.

Questa produzione di cisti si deve classificare fra quelle che accompagnano i teratomi, ma i miei reperti vengono ad acquistare speciale importanza perchè sarebbero la naturale conferma dei risultati sperimentali del *Traina*. Infatti egli ha ottenuto sempre produzione di cisti dopo l'attecchimento di innesti embrionali nell'ovaio, mentre eguale risultato non aveva con innesti di sostanze alle quali era impossibile attecchire.

Fra i *disturbi di circolazione:* frequenti le emorragie puntiformi in individui morti per ileotifo — scarlattina — cirrosi-epatica con ittero grave e in una donna gravida morta per eclampsia. Questi reperti confermano le osservazioni di *Charrin* e *Langlois*, *Roger*, *Arnaud* e gli esperimenti di *Foà* e *Pilliett*, che cioè nella ricerca delle cause di emorragie delle capsule si debba principalmente pensare alle intossicazioni, siano esse dovute a veleni fabbricati dall'organismo (itterizia, eclampsia) oppure di origine batterica (tifo, pneumonite) oppure siano anche dovute a sali minerali.

Tra i *processi progressivi* ho registrato un caso più unico che raro di ipertrofia e rigenerazione dei frammenti di una capsula schiacciata.

Alla regione lombo-dorsale destra di un cadavere di uomo morto di peritonite, si rinviene al posto del rene una grossa cisti ematica vuotata dal chirurgo e superiormente ad essa una grande quantità di connettivo cicatriziale — nel cui spessore si rinvengono sparsi alcuni frammenti della capsula destra. Dall'anamnesi si raccoglie che l'individuo avea subito il passaggio della ruota di un carro sul ventre: il rene schiacciato avea dato origine alla cisti ematica — la capsula era rimasta schiacciata.

I frammenti di essa hanno grandezza e spessore vario, alcuni conservano qualche resto dell'involucro connettivo, altri sono senza limiti nello spessore del connettivo di cicatrice. Delle due sostanze capsulari la corticale meglio si è adattata alle nuove condizioni di vita prodotte dal trauma; essa in molti dei frammenti è ipertrofica, mentre la midollare è atrofica ed invasa dal connettivo. Per i frammenti maggiori cioè quelli che avevano conservato con l'involucro i rapporti colle arterie capsulari media e superiore, si capisce come abbiano potuto vere ed anche ipertrofizzarsi, i più piccini invece, cacciati nel nettivo lasso di quella regione, si sono trovati nelle condizioni di totrapianti. Di dove essi abbiano nei primi tempi assunto i mate

nutritizi, è difficile spiegare: certo che il tessuto indifferente ove erano caduti e quindi il mancato antagonismo dei tessuti che si verifica spesso negli innesti sperimentali, e lo stimolo stesso del trauma, devono aver creato condizioni favorevoli all'attecchimento.

L'ipertrofia dei frammenti spiega sufficientemente la mancata ipertrofia compensatoria dall'altro lato.

Dei *processi regressivi* ho rivolto maggiormente la mia attenzione alla infiltrazione grassa e dalle innumerevoli osservazioni ho potuto trarre queste conclusioni: 1° La infiltrazione adiposa si riscontra frequentemente nelle malattie polmonari, nelle malattie del cuore e dei vasi, nelle infezioni acute e negli stati marasmatici e cachettici; 2° La capsula totalmente infiltrata di grasso aumenta di peso e di volume; 3° Oltre che dal peso e dal volume si può macroscopicamente giudicare della maggiore o minore intensità della infiltrazione adiposa del colorito giallo zolfo del parenchima; 4° La infiltrazione grassa si ha per lo più nella sostanza corticale. Per quanto riguarda la relazione fra le varie malattie e l'infiltrazione, i miei reperti concordano con quelli di *May:* egli però nelle malattie acute più che una infiltrazione grassa riscontrò un rigonfiamento torbido. Circa l'aumento di volume, esso si comprende facilmente qualora si esamini al microscopio una sezione di capsule parzialmente infiltrate. Allora si nota che nelle isole di parenchima che sono sede del deposito di grasso sono scomparsi gli spazi, che normalmente esistono, perchè la cellula infiltrata di grasso perde il suo protoplasma e si rigonfia aumentando molto il suo volume.

I tumori. Un caso di cancro primitivo della capsula che aveva il suo punto di origine dalla sostanza midollare. Al momento dell'autopsia esso non aveva raggiunto grandi dimensioni, nè aveva dato segni fisici in vita. Frequentemente ho rinvenuto iperplasie nodose e nodi metastatici da cancro del pancreas, del fegato e dello stomaco.

Molto interessante è un caso di *iperplasia nodosa midollare.* Nelle capsule di un ragazzo, morto di ileotifo, si rinviene un notevole ingrossamento della sostanza midollare situato verso l'estremità dell'organo; di colorito grigio chiaro e consistenza molle, diametro 1 cm. e mezzo. Istologicamente si osserva una ipertrofia della sostanza midollare: frequenti le figure cariocinetiche, abbondanti cellule ganglionari nervose riunite in certi punti in gruppi così da formare dei veri gangli, numerosi sono pure i cordoni nervosi. Nella letteratura esistono pochi casi che abbiano qualche analogia con questo; cioè il neurofibroma gangliocellulare di *Brüchanow:* quelli descritti da *Weichselbaum-Dagonet* e *Marchand.* Il nostro caso fu giudicato semplicemente una iperplesia nodosa midollare e in tale definizione resta compresa anche la anormale abbondanza di elementi nervosi.

Lipoma interessante per la sua estrema rarità.

Ha la grandezza di un pisello ed è situato ad una estremità della

capsula. Le cellule del parenchima sono all'intorno schiacciate. Nella letteratura il primo che fa menzione di lipomi delle capsule è il *Mattei* che ne raccolse 5 casi: però, data la insufficiente descrizione istologica, è dubbio si trattasse sempre di veri lipomi. Il primo caso diligentemente descritto è quello di *Brüchanow*, questo è il secondo: però è a credere che la frequenza di tali tumori sia realmente maggiore, ma che per lo più essi sfuggono all'occhio del settore.

GALEOTTI G. — Azione dell'alcool sull'organismo umano. - Alterazioni della deglutizione. - Variazioni dell'alcalinità del sangue. (Osservazioni fatte sul Monte Rosa).

(La memoria originale è pubblicata negli *Atti dell'Accademia dei Lincei*, anno 1903).

CAGNETTO G. — Alcune osservazioni intorno ad una epizoozia di polli.

Nel marzo u. s. venivano rimessi al nostro Istituto per l'opportuno esame batteriologico alcuni polli, morti durante un'epizoozia che infieriva in forma micidiale negli allevamenti del suburbio e della provincia di Padova. Supponendo di aver a fare con l'infezione nota comunemente sotto il nome di colera dei polli, si praticarono le solite ricerche colturali del sangue e dei succhi dei parenchimi: però i risultati furono costantemente negativi. Possedendo il sangue e tutti i tessuti dell'animale infetto un fortissimo potere patogeno, nonostante la loro apparente sterilità, venne il sospetto che si trattasse della stessa infezione recentemente illustrata dal *Centanni* e da lui denominata « peste aviaria ». Vi era infatti in comune oltre alla sterilità del sangue, già notata, anche l'interessante carattere delle filtrabilità del virus attraverso alle candele *Berkefeld*. Però nelle successive esperienze intraprese con lo stesso virus, scaturirono alcuni fatti nuovi che lasciarono in dubbio sull'assoluta identità delle due forme.

Si vide infatti:

I° Che il virus in esame, a differenza di quello della peste aviaria, presentava una maggiore adattabilità alla simbiosi *in vitro:* esso, ad es., conservava il suo potere infettante anche se a contatto per due giorni in termostato col *bacillum coli gallinarum*.

II° Il virus stesso, qualunque fosse il suo grado di diluizione, non riusciva ad oltrepassare la candela *Chamberland F*, pur mutando, *ad libitum*, la forza di pressione e la durata del periodo di filtrazione.

III° Il virus infine, e questo è il carattere differenziale più in ressante, esercitava la sua virtù patogena in un campo molto più ristr del virus della « peste aviaria » o, per meglio dire, era più specific quest'ultimo virus. Esso infatti non dispiegava alcuna azione nè in

tante, nè tossica sui conigli e sui piccioni domestici e selvatici, anche se neonati, come pure riusciva innocuo alle anitre domestiche e ai passeri adulti ed implumi anche in dosi enormi di fronte alla quantità necessaria per uccidere un pollo. L'infezione in tutti questi animali non veniva provocata nemmeno durante l'inanizione sperimentale, nè sostituendo al pollo, come animale fornitore del virus, un altro volatile sensibile, ad es. un individuo del genere *turdus*. Al contrario si riuscì nel piccione a provocare l'infezione durante lo sviluppo embrionale. L'uovo viene a schiusa dopo un periodo di incubazione regolare, ma il piccione infetto presenta alla nascita speciali anomalie anatomiche e funzionali, sulle quali avrà occasione di far parola nel mio lavoro completo. Nei riguardi della recettività, la reazione che presenterebbe l'embrione di piccione a codesto virus è analoga a quella che presenta l'embrione di pollo al virus carbonchioso: anche il pollo è sensibile al carbonchio, come dimostrò il *Maffucci*, solo allo stato di vita embrionale. In sostanza è questa una prova di più del modo differente con cui l'embrione reagisce a certe infezioni al confronto dell'animale adulto.

Per alcune delle proprietà che ho dette, la presente epizoozia si avvicinerebbe maggiormente a quella che *Maggiora* e *Valenti* descrissero sotto il nome di « tifo essudativo »: però questi due AA. non esclusero la possibilità che piccioni, cavie e conigli *neonati* potessero per avventura reagire al loro virus, prelevato dall'animale fornitore nello stato di purezza. Un dato differenziale, del resto, esisterebbe sempre nel diverso modo di comportarsi dei passeri di fronte all'una e all'altra infezione.

In conclusione io penso che l'epizoozie dagli AA. succitati descritte e quelle che formano argomento delle pubblicazioni di *Lode* e *Gruber*, di *Dubois* e di questa mia nota, appartengano verisimilmente a un solo gruppo, le cui singole varietà o sottospecie godrebbero di proprietà molto affini, mentre le particolari differenze tra loro esistenti forse in parte sfuggono a noi per la stessa grossolanità dei mezzi che ci sorreggono nell'indagine. Codesta imperfezione tecnica, del resto naturalissima in quanto la scoperta di questi virus ultramicroscopici è cosa dei nostri giorni, deve tuttavia renderci guardinghi nel ricondurre a un unico tipo malattie che presentano solo parziali caratteri di analogia: in ogni caso un criterio differenziale di primo ordine rimane sempre quello della diversa recettività degli animali al virus.

RAVENNA E. e **GENTILI A.** — **Le alterazioni istologiche del fegato prodotte da sostanze che distruggono i globuli rossi.** Ricerche sperimentali sulla patogenesi dell'ittero.

Gli autori avevano lo scopo di ricercare il meccanismo di produzione dell'ittero nelle alterazioni istologiche del fegato di animali iniettati con varie sostanze chimiche, e nei quali alla distruzione di globuli rossi prodotta da queste sostanze succedeva emoglobinuria e itterizia.

Gli esperimenti furono fatti su cani e conigli con fenilidrazina, toluilendiamina e specialmente con acido pirogallico. Queste sostanze determinarono nei reni sempre un processo necrobiotico le cui conseguenze erano fusione degli elementi epiteliali fra loro, disgregazione del protoplasma e formazione di un detrito granuloso che andava spesso ad occupare il lume dei canalicoli uriniferi.

Dai reperti istologici dei fegati di 22 animali si venne a concludere quanto segue:

I. L'iniezione sottocutanea nei conigli di scarsa quantità di acido pirogallico (25 ctg.) determina un accumolo di granuli e di concrezioni di pigmento biliare entro le cellule epatiche. Questo aumento va aumentando fino a raggiungere un massimo sei ore dopo l'iniezione: poi gradatamente diminuisce e scompare, per presentarsi ancora in seguito ad una nuova introduzione della sostanza tossica.

II. I conigli uccisi o morti uno o due giorni dopo un'unica iniezione sottocutanea di 55 ctg. di acido pirogallico, presentano gravi alterazioni istologiche nel fegato e precisamente necrosi e disgregazione della sostanza protoplasmatica: atrofia, anomalie di disposizione delle masse cromatiche e picnosi dei nuclei.

III. Eguali lesioni delle cellule epatiche presentano i conigli che ricevettero due iniezioni sottocutanee di 25 ctg. ciascuna di acido pirogallico.

IV. Una sola iniezione abbondante di acido pirogallico fatta entro la giugulare (1 gr. nel coniglio e 3 gr. per il cane) determina un avvelenamento acutissimo e la morte dell'animale dopo poche ore, coi sintomi di paralisi bulbare. Nel fegato si nota all'esame microscopico rapida e profonda distruzione del protoplasma delle cellule epatiche.

V. Iniezioni ripetute di cloridrato di fenilidrazina nei conigli, fatte sotto cute alla dose di 2 ctg. per volta producono necrobiosi della cellula epatica, che si appalesa colla disgregazione del protoplasma e con fusione fra loro di gruppi di cellule.

VI. Negli avvelenamenti di toluilendiamina accanto alla necrosi del protoplasma esiste spiccatissima la degenerazione grassa della cellula epatica.

VII. Reperto costante nei fegati di cani o di conigli trattati con iniezioni a dosi varie di fenilidrazina di toluilendiamina e di acido pirogallico è la dilatazione, per lo più modica, dei capillari biliari e la dilatazione invece molto spiccata e la stasi sanguigna di tutti i vasi del fegato e specialmente dei capillari intracinosi.

VIII. Soltanto nel caso in cui l'itterizia è molto intensa si re manifesta la stasi biliare.

In base a questi reperti sembra agli autori che l'itterizia possa sere spiegata nel seguente modo:

Alla iniezione delle varie sostanze che distruggono i globuli rc

segue un aumento di bile entro la cellula epatica: questa bile, trovando libere le vie di efflusso, viene eliminata come di norma.

Ripetendo le iniezioni di tali sostanze o aumentandone la dose, maggiore è da una parte la quantità che arriva al fegato dell'emoglobina libera e dei prodotti del disfacimento dei globuli rossi cioè del materiale che viene elaborato per formare la bile: ma d'altra parte si produce necrobiosi delle cellule epatiche, le quali arrivano al punto di non potere ulteriormente funzionare. Giunti a questo stadio si deve ammettere che cessi la produzione della bile.

Comunque, quella bile formata prima che la cellula sia giunta nell'impossibilità di elaborarne di nuova, nelle gravi alterazioni del parenchima epatico può non trovare più le condizioni favorevoli alla sua normale eliminazione.

Infatti lesioni nelle pareti di alcuni capillari biliari e fors'anche soluzione di continuità in esse, che non possono essere escluse specialmente in quei tratti di fegato in cui maggiore è stata la distruzione delle cellule epatiche, è causa della fuoriuscita della bile dalle sue vie naturali di efflusso.

La bile estravasata si trova presto a contatto dei vicini capillari sanguigni intraacinosi, entro i quali penetra facilmente o per soluzioni di continuità non improbabili nelle distruzioni avanzate del tessuto epatico, o filtrando attraverso le loro pareti alterate dalla profonda stasi o anche dallo stato discrasico prodotto dall'avvelenamento. In tal modo, essendosi la bile versata nella circolazione sanguigna, si produce l'itterizia.

MONTI A. — Sclerema e scleroedema dei neonati.

I clinici distinguono col *Barduzzi* lo scleroedema algido dall'indurimento atrepsico o sclerema genuino. Entrambe le forme vanno facendosi sempre più rare e la loro eziologia è argomento di grandi controversie: il *Baginsky*, modernizzando il pensiero di *Bassiano Carminati*, afferma che lo scleroedema è una malattia infettiva, il pediatra *Monti* di Vienna mantiene l'idea del *Paletta*, pensa cioè che si tratti di un edema passivo dovuto a disturbo di circolo in rapporto con la debolezza del cuore e con la respirazione insufficiente.

Io ho osservato al tavolo anatomico due casi di sclerema genuino, uno di scleroedema.

Nei due casi di sclerema ho trovato il pannicolo adiposo duro come cartone contenente piccoli focolai disseminati di bacilli colorabili col *Gram-Weigert*. Questo bacillo ben coltivabile in gelatina è innocuo per gli animali adulti, patogeno solo per i conigli neonati, ma non riproduce in questi il quadro dello sclerema.

In un caso di scleroedema, ho potuto stabilire la diagnosi di infezione streptococcica consecutiva ad artrite purulenta, con numerosi pic-

coli focolai nel pannicolo adiposo e con emboli streptococcici nei capillari della cute. Lo streptococco isolato presenta i caratteri culturali dello *St. pyogenes*. Gli animali inoculati sotto cute od in cavità sierosa sono morti per infiammazione fibrinosa purulenta con abbondante essudato, dal quale si potè isolare di nuovo lo streptococco.

Ricordo che il *Comba* in un caso di scleroedema trovò invece il bacillo di *Friedländer* nel sangue e nel polmone, nulla nella cute; in un altro caso trovò streptococchi solo nel sangue.

Ricordo pure che l'*Aufrecht*, lo *Schmidt* trovarono altri microrganismi. Il *Monti* di Vienna mi assicurava recentemente che in molti casi da lui osservati si trovarono *processi morbosi diversi* del polmone, mancarono completamente i microrganismi della cute.

Allo stato presente degli studi dobbiamo dunque concludere che lo scleroedema dei neonati è un quadro clinico ben definito, ma non una entità eziologica.

Si danno casi di scleroedema sicuramente infiammatorio nel quale l'alterazione cutanea è spiegata dagli emboli infettanti, come nel mio caso. Si danno altri esempi di scleroedema la cui spiegazione deve ricercarsi o in azione di tossine, come vuole il *Comba*, o in disturbi meccanici del circolo, come afferma il *Monti* di Vienna.

Lo sclerema genuino va ben distinto dallo scleroedema; il reperto istologico dei miei due casi, mi fa pensare all'origine infettiva. Ma dopo quanto risulta per lo scleroedema non posso affermare che tutti i casi di sclerema abbiano la stessa genesi; questa risulterà chiarita solo da più estese ricerche.

ZANFROGNINI A. — Adenoma di tessuto cromaffine della capsula surrenale.

Si tratta di un tumore riscontrato nella capsula surrenale di un bue, costituito di sola sostanza midollare. Esso dava in tutti i punti le caratteristiche reazioni di questa al percloruro di ferro e al bicromato di potassa, e il suo estratto acquoso iniettato nella vena dell'orecchio di un coniglio determinava un forte aumento della pressione sanguigna.

Il reperto microscopico è quello di una neoformazione adenomatosa della sostanza midollare, a sottili alveoli comunicanti: nella sostanza corticale si ha per un lato atrofia da compressione, e per l'altro una invasione diretta del tumore nelle colonne cellulari di questa sostanza, con progressiva distruzione dei singoli elementi.

Questo tumore sta in contrapposto di altri tumori tipici osservati dall'A., i quali per la forma e disposizione degli elementi apparivano di provenienza corticale.

Il caso è interessante perchè dimostra, ancora una volta, la diversa natura degli elementi costituenti le due sostanze della capsula.

L'A. si augura di poter richiamare su questi tumori l'attenzione

degli anatomo-patologi, poichè trattandosi di estese neoformazioni aventi una funzione fisiologica, l'osservarli nell'uomo può essere di non lieve utilità per la conoscenza della fisio-patologia del tessuto cromaffine.

LOMBROSO UGO. — Sulla funzione del Pancreas nell'assorbimento ed utilizzazione dei grassi.

Mi sono proposto di ricercare se e in quale maniera può avvenire l'assorbimento dei grassi negli animali coi dotti pancreatici legati e in quelli spancreatizzati. Legando i dotti pancreatici del cane constatai che in tali animali (rimessisi più o meno prontamente dal trauma operatorio), indipendentemente dalle apparenti condizioni generali, si ristabiliva l'assorbimento dei grassi.

Per tale risultato fui indotto a cercare se dopo la legatura dei dotti pancreatici nell'intestino si versasse qualche altra secrezione dotata di proprietà lipolitiche atte a vicariare quella della secrezione pancreatica.

L'esame della bile e del secreto enterico dimostra un lieve potere lipolitico. È probabile che l'assorbimento dei grassi negli animali a secrezione pancreatica impedita avvenga in virtù di tali proprietà lipolitiche, per quanto non si possa recisamente affermarlo perchè esse erano assai tenui, e perchè non si possa ancora escludere in modo assoluto che al pancreas non rimanesse qualche altro mezzo per influire più direttamente nella digestione intestinale.

In ogni modo si possa o non si possa attribuire a tali proprietà lipolitiche l'assorbimento dei grassi negli animali a dotto legato, non si deve con ciò ammettere che la perdita del grasso nelle feci degli animali spancreatizzati sia dovuta alla mancanza d'azione lipolitica. Anche dopo la esportazione del pancreas a secrezione impedita riscontrai permanere nella secrezione intestinale tali proprietà lievemente lipolitiche, malgrado che, come più volte constatai, la spancreatizzazione traesse di conseguenza la perdita nelle feci di uguali quantità di grasso di quella ingerita. Esaminando comparativamente l'assorbimento dei grassi nei cani spancreatizzati somministrando successivamente al grasso neutro, sia acidi grassi che saponi, (i quali rappresentano il risultato della funzione pancreatica) non vidi modificarsi la percentuale di perdita del grasso nelle feci.

Quest'osservazione farebbe ritenere che la funzione pancreatica esterna non è sufficiente a far sì che l'organismo possa assorbire e trattenere il grasso, ma che a ciò è necessaria la presenza del pancreas anche se non comunicante coll'intestino.

Riporterò a tale proposito alcune osservazioni che possono avvalorare questa ipotesi:

Avendo seguito lungamente il ricambio materiale in sette cani spancreatizzati constatai che tre di essi presentavano nei primi giorni una perdita di grasso maggiore all'introdotto; uno di essi al quale avevo iniettato della iodipina nel peritoneo continuò a perdere grasso nelle feci

anche durante un periodo di digiuno. Un altro nutrito per un mese di seguito a latte e pane, assorbì nei primi quindici giorni una discreta quantità di grasso, ma nei giorni sussequenti ebbe una perdita tale di grassi che la somma totale corrispondeva alla quantità contenuta nel latte dato.

Ricorderò che alcuni animali i quali dopo la spancreatizzazione rifiutarono il cibo e morirono dopo un periodo di 10, 12 giorni di digiuno, senza rilevare cause manifeste di morte, presentavano un pannicolo adiposo ben sviluppato. In un gatto morto in tali condizioni in 12ª giornata, l'azoto che trovai nell'urina corrispondeva all'azoto contenuto in un peso di carni di gatto corrispondente alla perdita in peso dell'animale.

Ricorderò infine che somministrando sapone, acido grasso ai cani spancreatizzati, si trovava nelle feci meno acido grasso di quanto si sarebbe aspettato dato il percentuale di perdita di grasso, e questo era sostituito da un equivalente quantità di grasso neutro.

Per tutti questi fatti: perdita cioè nelle feci di grasso anche se somministrato in forma assimilabile; trasformazione dell'acido grasso in grasso neutro, trasformazione che non possiamo ammettere avvenga nel lume intestinale ove manca la glicerina necessaria a tale sintesi; perdita nelle feci di grasso in quantità maggiore alla somministrata e durante il digiuno; permanenza del pannicolo adiposo dopo un lungo periodo di digiuno, contrariamente a ciò che si è notato nel digiuno sperimentale; per tutti questi fatti ripeto, mi pare che si debba ammettere che il pancreas abbia non solo una funzione a rendere assorbibili i grassi ma anche a far sì che tali grassi vengano convenientemente utilizzati.

VASSALE G. e ZANFROGNINI A. — Sul processo di secrezione dell' apparato capsulare.

Il noto principio vaso-costrittore del sistema della capsula surrenale, che è appunto la paraganglina che col percloruro di ferro dà la nota reazione verde di *Vulpian*, e coi sali di cromo dà la colorazione rosso-bruna (donde il nome di tessuto cromaffine alla sostanza midollare della capsula), è, come già dimostrarono altri citologi, il prodotto di secrezione delle cellule della sostanza midollare della capsula soprarenale, le quali cellule, avuto riguardo alla loro origine embrionale, debbono considerarsi con *Diamare* e *Giacomini*, come neuro-epiteli. Per la dimostrazione del processo di secrezione delle cellule midollari, gli AA. hanno ottenuto preparati della maggiore evidenza dalla capsula del bue trattata col seguente metodo: induramento per 10-15 giorni in un miscuglio di cromato neutro di potassio al 3 % parti 100, formalina parti 10; passaggio nella serie de alcool, inclusione in paraffina, colorazione delle sezioni con liquido *Bigonzini* e con emateina. Appaiono chiaramente in questi preparati ne sostanza midollare due sorta di cellule: cellule in riposo e cellule a

vamente funzionanti, pregne di sostanze cromaffine, la paraganglina, che versano diréttamente nei capillari e nelle vene.

Il prodotto di secrezione delle cellule della sostanza corticale, secondo gli AA., sono quelle goccioline di cui sono specialmente ricche le cellule della zona fascicolata, goccioline che furono in addietro considerate come goccioline di grasso, e che *Kaiserling* ed *Orgler* insegnarono a distinguere dal grasso, e denominavano goccioline di mielina, per la proprietà della birifrangenza che presentano alla luce polarizzata. Il processo di secrezione delle cellule corticali, gli AA. studiarono con vantaggio nel gatto. Nella capsula del gatto adulto, trattata col carminio *Vassale* all'allume di cromo e acido arsenioso, nella zona fascicolata appaiono tratti di cellule in via di formazione delle dette goccioline mieliniche e tratti di cellule piene di esse goccioline. Si vedono i varî stadî della metamorfosi mielinica cellulare che, quando è giunta all'estremo, conduce alla dissoluzione della cellula.

Adunque le ricerche istologiche, come gli esperimenti degli AA., stanno a dimostrare nell'apparato capsulare due funzioni indipendenti (una funzione corticale e una funzione midollare).

DONATI A. — Dimostrazione dei corpuscoli ossei e loro prolungamenti mediante il metodo di Schmorl, in ossa macerate e decalcificate. (Con dimostrazione di preparati).

Lo *Schmorl* propose recentemente un metodo speciale per la colorazione dei corpuscoli ossei e loro ramificazioni, in ossa freschissime, ben fissate nei comuni liquidi, ad eccezione del sublimato, e decalcificate.

Nel corso di alcune ricerche da me fatte sull'influenza dell'impianto di osso macerato per la neoformazione di tessuto osseo nel rene necrotico, adoperai questo metodo e notai che la colorazione con la tionina era perfettamente avvenuta nella lamina di osso macerato. Ripetei questa prova in ossa umane da lungo tempo macerate e disseccate, che io senza impiantare nel rene, decalcificai e trattai secondo il metodo di *Schmorl*. Nei preparati così ottenuti e perfettamente riusciti non era difficile stabilire con sicurezza il localizzarsi della tionina ai limiti interni dei corpuscoli e canalicoli vuoti.

È noto che lo *Schmorl* attribuisce la colorazione al fissarsi della tionina nelle capsule ossee (grenzscheiden); la sua opinione però non è dimostrata da ricerche. Perciò eseguii la colorazione in sezioni di ossa macerate e decalcificate, le quali erano state preventivamente trattate con soluzione di potassa caustica. In tali sezioni nelle quali le capsule ossee erano state disciolte, mentre la sostanza fondamentale era rimasta invariata, non avvenne la colorazione bleu dei corpuscoli ossei. Da queste osservazioni risulta:

1° Che con il metodo alla tionina di *Schmorl* è possibile mettere

in evidenza i corpuscoli ossei e i loro prolungamenti in ossa non fissate, macerate completamente e da lungo tempo essiccate.

2° Che disciogliendo le capsule ossee pur conservando inalterata la sostanza fondamentale, la colorazione non avviene.

Quest'ultimo fatto sta a dimostrare che la colorazione con la tionina avviene nelle capsule ossee.

In ultimo volli provare se una breve macerazione, prima della fissazione, non consentisse di mettere in evidenza corpuscoli e canalicoli in ossa che difficilmente si colorano con la tionina, quando siano ordinariamente fissate (ossa di parecchi vertebrati). La colorazione in questo caso non avvenne; quindi la macerazione incompleta non favorisce affatto la buona riuscita del metodo.

ANGIOLO MAFFUCCI.

Col più vivo cordoglio mandiamo l'estremo saluto alla memoria del Collega *Angiolo Maffucci.*

Già colpito dalla malattia, che doveva spengerlo all'età di 55 anni, Egli non potè assistere al II Congresso della nostra Società: i Soci, dolenti di non averlo tra loro, espressero al Collega assente i più fervidi augurii di guarigione. Pur troppo gli augurii riuscirono vani ed il 24 Novembre 1903 *Angiolo Maffucci* spirava.

La sua esistenza fu una lotta continua per la scienza, nella quale pose tutta la sua attività, tutto il suo ingegno. Non inutilmente Egli è passato nella vita, poichè i suoi studii sulla patologia dell'embrione, sulla tubercolosi umana, aviaria e bovina rimangono omai scritti a caratteri indelebili nel libro d'oro della scienza.

La nostra Società ha perduto uno dei più illustri suoi membri, e noi, a nome suo, deponiamo un memore fiore sulla tomba del compianto Collega.

G. Banti. A. Lustig.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile.*

INDICE DEL CONGRESSO

Elenco dei soci ..... Pag. 687
Prefazione 689

Adunanza antimeridiana del 5 ottobre 691

Luzzatto A. M. — Sull'esistenza e lo sviluppo di una sostanza cianofila e di una sostanza eritrofila nella cellula nervosa 691
Luzzatto A. M. — Sulla carcinosi gastrica diffusa ed i suoi rapporti con la linite plastica 695
Motta-Coco A. — Secondo contributo allo studio delle granulazioni fuxinofile della cellula dei gangli spinali 696
Cirincione G. — Degenerazione ialina nei tessuti oculari 698
Centanni E. — Sulle modificazioni della resistenza cellulare per opera dei prodotti dell'autolisi 698
Petrone A. — Altre ricerche sulla reazione emato-porfirinica del globulo rosso 701
D'Arrigo G. — Studi comparativi sulla morfologia del bacillo tubercolare nei tessuti umani, bovini ed aviari 705

Adunanza pomeridiana del 5 ottobre 707

Foà C. — Sull'iperglobulia sull'alta montagna 707
Marchiafava E. — Sulla sclerosi delle arterie coronarie 708
Dionisi A. — Sull'induramento polmonare consecutivo a polmonite crupposa 711
Dionisi A. — Sulla degenerazione policistica dei polmoni 716
Dionisi A. — Sulla cistite e ureterite cistica 720
Barbacci O. — Sull'ureterite cistica 720
Nazari A. — Alterazioni renali nella tetania gastrica 721
Levi Della Vida M. - Sui sieri tossici specifici per le capsule surrenali 723
Foà P. — Sui sieri cito-tossici e sull'attività degli organi ematopoietici 725

Adunanza antimeridiana del 6 ottobre ..... Pag. 727

Tarozzi G. — Su di una forma speciale di aneurisma dell'arteria splenica in dipendenza di un'elastoma della parete arteriosa... 727
Tarozzi G. — Su di una speciale varietà di blastomicete patogeno coltivato da un caso di leucemia..... 728
Ferrarini G. — Ricerche sulla guaribilità anatomica e funzionale delle lesioni renali 729
Biondi D. — Ematuria da follicoli linfoidi della muccosa della pelvi renale..... 731
Ferrari E. — Sulla periarterite nodosa..... 732
Pende N. — Sulle altèrazioni delle capsule surrenali in seguito alla resezione dello splacnico ed all'estirpazione del plesso celiaco.. 733
Maffucci A. — Intorno all'azione del bacillo della tubercolosi umana, bovina ed aviaria nei bovini ed ovini..... 735
Bonome A. — Di una nuova localizzazione dell'influenza. Contributo alla patogenesi dell'atrofia acuta del fegato... 736

Adunanza pomeridiana del 6 ottobre..... 743

Pepere A. — Sui teratomi del testicolo..... 743
Cagnetto G. — Sulla relazione anatomica fra acromegalia e tumore ipofisario 744
Vanzetti F. — Contributo al processo di calcificazione dei vasi cerebrali 744
Ravenna E — Noma e localizzazioni rare del bacillo del tifo..... 745
Ravenna E. — Un altro caso di alterata sensibilità igrica..... 747
Bizzozero E. — Ricerche sugli innesti di polmone fetale ed adulto di coniglio..... 747
Perroncito A. — Ricerche sugli organi nervosi terminali dei muscoli striati e dei tendini..... 748
Marzocchi V. — Sugli eritrociti granulosi 750
Marzocchi V. — Sui processi rigenerativi delle ghiandole salivari sierose..... 751
Marenghi G. — Sull'esportazione delle capsule surrenali in alcuni mammiferi 752
Cesa Bianchi. — Di una costante alterazione dell'ovaia in seguito all'esportazione delle capsule surrenali in alcuni mammiferi.... . 755
Tiberti N. — Sul potere immunizzante del nucleo-proteide estratto dal bacillo del carbonchio ematico.... 756
Tiberti N. — Osservazioni microscopiche sulla secrezione pancreatica negli animali smilzati .... [illegible]
Morandi E. — Sull'infiammazione nei reni..... 7[illegible]
Fabris A. — Sull'atrofia sperimentale del testicolo ..... [illegible]
Parodi U. — Innesto della capsula soprarenale fetale .... [illegible]

Adunanza antimeridiana del 7 ottobre ..... Pag. 763

Sacerdotti C. — Risultati di ricerche sul trapianto della ipofisi..... 763
Pianese G. — Di alcuni effetti immediati e lontani della splenectomia nella cavia..... 764

Presentazione di proposte e discussione su questioni di ordine interno della Società di Patologia..... 770

Baroncini e Giacometti. — Risultati preliminari di nuove ricerche sul siero neurotossico..... 772

Adunanza pomeridiana del 7 ottobre..... 772

Negri A. — Sull'eziologia della rabbia 772
Volpino. — Sulla diagnosi istologica della rabbia..... 774
Bertarelli. — Sui rapporti tra le modificazioni morfologiche dei corpi di *Negri* e le modificazioni di virulenza del virus rabico..... 775
Bertarelli e Volpino. — Ricerche sulla rabbia 775
Bertarelli ed Heller. — Sulle sostanze tossiche rabiche..... 776
Celli e De Blasi. — Il virus rabico è filtrabile?..... 777
Castellani A. — La malattia del sonno..... 781
Banti G. — Le leucemie..... 786
Fichera G. — Sulla distribuzione del glicogeno in varie specie di glicosuria sperimentale 789

Comunicazioni presentate e non lette..... 790

D'Arrigo G. — L'involuzione del tubercolo peritoneale in rapporto alle fasi che subisce il bacillo tubercolare dopo la laparotomia..... 790
Bignami A. — Sulle alterazioni dei centri nervosi consecutive a lesioni cerebrali infantili 792
Lustig A. — I metodi razionali di immunizzazione per mezzo di sostanze chimicamente estratte dai microrganismi patogeni..... 794
Lustig A. — Ricerche sperimentali nella trasmissione dell'immunità acquisita per i veleni (abrina) 794
Polverini G. — Ricerche sul piede di Madura..... 794
Tiberti N. — Ricerche istologiche sui fenomeni secretivi nelle capsule surrenali di alcuni anfibi 795
Federici F. — Su alcuni particolari caratteri del grasso contenuto nelle cellule delle capsule surrenali 795
Federici F. — Le capsule surrenali nelle infezioni sperimentali acute e croniche..... 797
Picchi L. — Encondroma delle vene 800
Picchi L. e Giarrè C. — Ricerche sui bacilli emofili..... 800

Azzurrini F. e Massart G. — Azione delle tossine tifiche sulla morfologia del sangue ..... Pag. 801
Azzurrini F. e Massart G. — La morfologia del sangue negli animali smilzati 802
Foà P. — Sull'infiltrazione grassa 803
Marchetti G. — Contributo alla conoscenza della patologia delle capsule surrenali 805
Galeotti G. — Azione dell'alcool sull'organismo umano. Alterazioni della deglutizione. Variazioni dell'alcalinità del sangue 808
Cagnetto G. — Alcune osservazioni intorno ad una epizoozia di polli. 808
Ravenna E. e Gentili A. — Le alterazioni istologiche del fegato prodotte da sostanze che distruggono i globuli rossi 809
Monti A. — Sclerema e sclero-edema dei neonati 811
Zanfrognini A. — Adenoma di tessuto cromaffine della capsula surrenale 812
Lombroso U. — Sulla funzione del pancreas nell'assorbimento ed utilizzazione dei grassi 813
Vassale G. e Zanfrognini A. — Sul processo di secrezione dell'apparato capsulare 814
Donati A. — Dimostrazione dei corpuscoli ossei e loro prolungamento mediante il metodo *Schmorl*, in ossa macerate e decalcificate 815

Per Angelo Maffucci 817

INDICE

BUFALINI Prof. G., Un nuovo ureometro. (Con una figura in zincotipia) ..... Pag. 403
CUMBO Dott. E., Sulla resistenza dei corpuscoli rossi di fronte a soluzioni colloidali 331
FERRARI Dott. P. L., Altre ricerche intorno alla struttura della membrana amniotica. (Con 7 figure in zincotipia) 125
FOÀ Dott. G. e CHIAPPELLA Dott. A. R., Ricerche sopra un nuovo microrganismo fosforescente. (Con 2 tavole in cromolitografia). 274
FRANCHETTI Dott. A., Sulle cellule giganti da corpi estranei 607
FRIZZONI Dott. U., Un caso di produzione sottolinguale con abbondante accumulo di cellule eosinofile fra gli elementi del tumore. (Con una tavola in cromolitografia) 159
GALEOTTI G., Sulle differenze fisico-chimiche tra i protoplasmi viventi e morti 171
GIARRÈ Dott. C. e PICCHI Dott. L., Ricerche batteriologiche nella congiuntivite catarrale acuta, nel morbillo e nell'influenza. (Contributo allo studio dei bacilli emofili) 475
LUZZATTO Dott. R., ricerche intorno all'azione fisiologica della quebracamina. (Con 12 incisioni in legno) 310
LUSENA Dott. G., Sul contenuto lecitinico del fegato, dei reni e del cuore nella degenerazione adiposa sperimentale 29
MARCHETTI Dott. O. e FILIPPI Dott. E., Sul potere di riduzione dei tumori. — (Nota preventiva) 181
ORRÙ Dott. Efisio, Osservazioni morfologiche sui muscoli spinali posteriori 435
PASINI Dott. A., Sul processo di atrofia del tessuto adiposo sottocutaneo nel dimagramento 571
PEZZOLINI Dott. P., Sopra la pretesa influenza della tiroide sul decorso di guarigione delle fratture. — (Ricerche sperimentali)... 193
PIRONE Dott. R., Sulle neurotossine e sulle alterazioni da esse prodotte sul sistema nervoso centrale 143
POLVERINI G., Ricerche e osservazioni sul Piede di Madura 659

Q. Ruata Dott. Guido, L'analisi quantitativa nella diagnosi bacteriologica delle acque ..... Pag. 371
Ravenna Dott. E. e Minassian Dott. P., Sulla tossicità del sangue nell'ipertermia sperimentale. (Con 2 tavole in cromolitografia). 5
Ravenna Dott. E., Sulla degenerazione amiloide sperimentale. — (Osservazioni) 213
Remedi Prof. V., Contributo alle lesioni prodotte dal fungo raggiato. 47
Rendiconti delle Adunanze dell'Accademia Medico-fisica fiorentina 123, 355, 462, 626
Siciliano Dott. Luigi, Sulla distribuzione della temperatura periferica nel cadavere. (Con 3 tavole in zincotipia, e una figura in zincotipia intercalata nel testo) 418
Silvestrini Prof. R., Note cliniche e anatomo-patologiche in varii casi di meningite tubercolare. (Con 3 tavole in litografia) 389
Simon Dott. I., Ricerche sperimentali sulla peristaltica intestinale. (Con una figura in zincotipia) 74
Solieri Dott. S., Istogenesi di un tumore maligno connettivale. (Con 2 tavole in cromolitografia) 449
Spangaro Dott. S., Nel testicolo senile conduce la legatura del dotto deferente all'atrofia dell'organo? (Osservazioni istologiche e critiche) 243
Strada Dott. F., Adenoma congenito ombelicale a tipo gastrico. (Contributo allo studio dei tumori congeniti dell'ombelico) 637
Vasoin Dott. B., Sul glicogene epatico delle rane ibernanti e sulle sue modificazioni quantitative in seguito ad un aumento rapido della temperatura nelle rane normali e nelle rane con vago tagliato 584

Resoconto della II Riunione della Società Italiana di Patologia 685

---

9. 2.
16.

16AL 337